ISSN 1814-6023 (Print)
ISSN 2524-2350 (Online)

ВЕСЦІ
НАЦЫЯНАЛЬНАЙ АКАДЭМІІ НАВУК БЕЛАРУСІ

СЕРЫЯ МЕДЫЦЫНСКІХ НАВУК. 2019. Том 16. № 3

ИЗВЕСТИЯ
НАЦИОНАЛЬНОЙ АКАДЕМИИ НАУК БЕЛАРУСИ

СЕРИЯ МЕДИЦИНСКИХ НАУК. 2019. Том 16. № 3

Журнал основан в 2004 г.
Выходит четыре раза в год

Учредитель – Национальная академия наук Беларуси

Журнал зарегистрирован в Министерстве информации Республики Беларусь,
свидетельство о регистрации № 393 от 18 мая 2009 г.

Главный редактор:

Николай Сергеевич Сердюченко –
Отделение медицинских наук Национальной академии наук Беларуси, Минск, Республика Беларусь

Редакционная коллегия:

О. О. Руммо (*заместитель главного редактора*) – Минский научно-практический центр хирургии, трансплантологии и гематологии, Минск, Республика Беларусь
В. Г. Колосовская (*ведущий редактор журнала*)
Ф. И. Висмонт – Белорусский государственный медицинский университет, Минск, Республика Беларусь
М. А. Герасименко – Республиканский научно-практический центр травматологии и ортопедии, Минск, Республика Беларусь
С. В. Губкин – Институт физиологии Национальной академии наук Беларуси, Минск, Республика Беларусь
Г**. Л. Гуревич** – Республиканский научно-практический центр пульмонологии и фтизиатрии, Минск, Республика Беларусь
Ю. Е. Еременко – Республиканский научно-практический центр оториноларингологии, Минск, Республика Беларусь
С. Л. Кабак – Белорусский государственный медицинский университет, Минск, Республика Беларусь
С. А. Красный – Республиканский научно-практический центр онкологии и медицинской радиологии им. Н. Н. Александрова, Минск, Республика Беларусь
Н. П. Митьковская – Белорусский государственный медицинский университет, Минск, Республика Беларусь
С. П. Рубникович – Белорусская медицинская академия последипломного образования, Минск, Республика Беларусь

И. Н. Семененя – Институт биохимии биологически активных соединений Национальной академии наук Беларуси, Минск, Республика Беларусь
Р. Р. Сидорович – Республиканский научно-практический центр неврологии и нейрохирургии, Минск, Республика Беларусь
А. В. Строцкий – Белорусский государственный медицинский университет, Минск, Республика Беларусь
А. В. Сукало – Белорусский государственный медицинский университет, Минск, Республика Беларусь
Л. П. Титов – Республиканский научно-практический центр эпидемиологии и микробиологии, Минск, Республика Беларусь
С. И. Третьяк – Белорусский государственный медицинский университет, Минск, Республика Беларусь

Редакционный совет:

Эдуардас Алекнавичиус – Национальный институт рака, Вильнюс, Литовская Республика
Ю. В. Вороненко – Национальная медицинская академия последипломного образования имени П. Л. Шупика, Киев, Украина
Марк М. Ван Гулле – Университет Лёвена, Лёвен, Королевство Бельгия
Драган Дьюрич – Институт медицинской физиологии Ричарда Бьюриана Университета Белграда, Белград, Республика Сербия
Т. П. Клюшник – Научный центр психического здоровья, Москва, Российская Федерация
В. А. Кульчицкий – Институт физиологии Национальной академии наук Беларуси, Минск, Республика Беларусь
Марк-Антуан Кусто – Анжерский университет, Анже, Французская Республика
А. И. Мартынов – Медицинский центр Управления делами Президента Российской Федерации, Москва, Российская Федерация
Р. Г. Оганов – Российское кардиологическое общество, Москва, Российская Федерация
Н. Д. Савенкова – Санкт-Петербургская государственная педиатрическая медицинская академия, Санкт-Петербург, Российская Федерация
А. Ф. Смеянович – Республиканский научно-практический центр неврологии и нейрохирургии, Минск, Республика Беларусь
В. И. Стародубов – Российская академия наук, Москва, Российская Федерация
М. В. Угрюмов – Институт биологии развития имени Н. К. Кольцова Российской академии наук, Москва, Российская Федерация
И. А. Чешик – Институт радиобиологии Национальной академии наук Беларуси, Гомель, Республика Беларусь

Журнал рецензируется. Входит в Перечень научных изданий Республики Беларусь для опубликования результатов диссертационных исследований, включен в базу данных Российского индекса научного цитирования (РИНЦ)

Адрес редакции:
ул. Академическая, 1, к. 119, 220072, г. Минск, Республика Беларусь.
Тел.: + 375 17 284-19-19; e-mail: medvesti@mail.ru.
Сайт: vestimed.belnauka.by.

ИЗВЕСТИЯ НАЦИОНАЛЬНОЙ АКАДЕМИИ НАУК БЕЛАРУСИ.
Серия медицинских наук. 2019. Том 16, № 3.
Выходит на русском, белорусском и английском языках

Редактор *В. Г. Колосовская*
Компьютерная верстка *Н. И. Кашуба*

Подписано в печать 14.08.2019. Выход в свет 28.08.2019. Формат 60×84 $^{1}/_{8}$. Бумага офсетная.
Печать цифровая. Усл. печ. л. 14,88. Уч.-изд. л. 16,4. Тираж 44 экз. Заказ 189.
Цена номера: индивидуальная подписка – 11,81 руб., ведомственная подписка – 28,27 руб.

Издатель и полиграфическое исполнение:
Республиканское унитарное предприятие «Издательский дом «Беларуская навука».
Свидетельство о государственной регистрации издателя, изготовителя, распространителя печатных изданий № 1/18 от 02.08.2013. ЛП № 02330/455 от 30.12.2013. Ул. Ф. Скорины, 40, 220141, г. Минск, Республика Беларусь

© РУП «Издательский дом «Беларуская навука»,
Весці Нацыянальнай акадэміі навук Беларусі. Серыя медыцынскіх навук, 2019

ISSN 1814-6023 (Print)
ISSN 2524-2350 (Online)

PROCEEDINGS
OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF BELARUS

MEDICAL SERIES. 2019. Vol. 16. No. 3

The Journal was founded in 2004

Issued four times a year

Founder is the National Academy of Sciences of Belarus

The journal is registered on May 18, 2009 by the Ministry of Information of the Republic of Belarus in the State Registry of Mass Media, reg. no. 393

Editor-in-Chief:

Nikolai S. Serdiuchenko – Department of Medical Sciences of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus

Editorial Board:

Oleg O. Rummo – Minsk Scientific-Practical Center of Surgery, Transplantation and Hematology, Minsk, Republic of Belarus
Valentina G. Kolosovskaya (*Managing Editor*)
Yulia E. Eremenko – Republican Center for Research and Practice in Otolaryngology, Minsk, Republic of Belarus
Mikhail A. Gerasimenko – Republican Scientific-Practical Center of Traumatology and Orthopedics, Minsk, Republic of Belarus
Gennady L. Gurevich – Republican Scientific and Practical Center of Pulmonology and Tuberculosis, Minsk, Republic of Belarus
Siarhei V. Hubkin – Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus
Sergei L. Kabak – Belarusian State Medical University, Minsk, Republic of Belarus
Sergei A. Krasny – N. N. Alexandrov National Cancer Centre, Minsk, Republic of Belarus
Natalia P. Mitkovskaya – Belarusian State Medical University, Minsk, Republic of Belarus
Sergei P. Rubnikovich – Belarusian Medical Academy of Postgraduate Education, Minsk, Republic of Belarus
Igor N. Semenenya – Institute of Biochemistry of Biologically Active Substances of the National Academy of Sciences of Belarus, Grodno, Republic of Belarus
Ryszard R. Sidorovich – Republican Research and Practical Center of Neurology and Neurosurgery, Minsk, Republic of Belarus
Aleksandr V. Strockij – Belarusian State Medical University, Minsk, Republic of Belarus

Aleksandr V. Sukalo – Belarusian State Medical University, Minsk, Republic of Belarus
Leonid P. Titov – Republican Scientific and Practical Center for Epidemiology and Microbiology, Minsk, Republic of Belarus
Stanislaw I. Tretyak – Belarusian State Medical University, Minsk, Republic of Belarus
Frantisek I. Vismont – Belarusian State Medical University, Minsk, Republic of Belarus

Editorial Council:

Eduardas Aleknavicius – National Cancer Institute, Vilnius, Republic of Lithuania
Igor A. Cheshik – Institute of Radiobiology of the National Academy of Sciences of Belarus, Gomel, Republic of Belarus
Mark-Antoine Custaud – University of Angers, Angers, French Republic
Dragan Djuric – Richard Buryan Medical Physiology Institute of the University of Belgrade, Belgrade, Republic of Serbia
Mark M. Van Hulle – University of Leuven, Leuven, Kingdom of Belgium
Tatiana P. Klyushnik – Mental Health Research Center, Moscow, Russian Federation
Vladimir A. Kulchitsky – Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus
Anatoly I. Martynov – Medical Center of the Administration of the President of the Russian Federation, Moscow, Russian Federation
Raphael G. Oganov – Russian Cardiology Society, Moscow, Russian Federation
Nadezhda D. Savenkova – St. Petersburg State Pediatric Medical Academy, St. Petersburg, Russian Federation
Arnold F. Smeyanovich – Republican Research and Practical Center of Neurology and Neurosurgery, Minsk, Republic of Belarus
Vladimir I. Starodubov – Russian Academy of Sciences, Moscow, Russian Federation
Mikhail V. Ugryumov – Koltzov Institute of Developmental Biology of Russian Academy of Sciences, Moscow, Russian Federation
Yuri V. Voronenko – National Medical Academy of Postgraduate Education named after P. L. Shupik, Kyiv, Ukraine

The Journal is included in The List of Journals for Publication of the Results of Dissertation Research in the Republic of Belarus and in the database of Russian Science Citation Index (RSCI)

Address of the Editorial Office:
1, Akademicheskaya Str., room 119, 220072, Minsk, Republic of Belarus.
Phone: + 375 17 284-19-19; e-mail: medvesti@mail.ru.
Website: vestimed.belnauka.by.

PROCEEDING OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF BELARUS.
Medical series. 2019. Vol. 16, No. 3.

Printed in Russian, Belarusian and English languages

Editor *V. G. Kolosovskaya*
Computer imposition *N. I. Kashuba*

It is sent of the press 14.08.2019. Appearance 28.08.2019. Format 60× 84 $^{1}/_{8}$. Offset paper. The press digital.
Printed pages 14,88. Publisher's signatures 16,4. Cir culation 44 copies. Order 189.
Number price: individual subscription – 11,81 byn., departmental subscription – 28,27 byn.

Publisher and printing execution:
Republican unitary enterprise "Publishing House "Belaruskaya Navuka"
Certificate on the state registration of the publisher, manufacturer, distributor of printing editions No. 1/18 dated August 2, 2013. License for the press No. 02330/455 dated December 30, 2013. Address: 40, F. Scorina Str., Minsk, 220141, Republic of Belarus.

© RUE "Publishing House "Belaruskaya Navuka",
Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series, 2019

ISSN 1814-6023 (Print)
ISSN 2524-2350 (Online)

ЗМЕСТ

КЛІНІЧНАЯ І ЭКСПЕРЫМЕНТАЛЬНАЯ МЕДЫЦЫНА

Бранковская Е. Ю., Митьковская Н. П., Гунич С. В. Структурно-функциональное состояние сердечно-сосудистой системы пациентов с инфарктом миокарда и острым ишемическим повреждением почек 263

Фролов А. В. Использование биоэлектрического моделирования и электрокардиографии высокого разрешения для характеристики устойчивости сердечно-сосудистой системы 271

Арчакова Л. И., Калиновская Е. И., Кузнецова Т. Е., Новаковская С. А., Митюкова Т. А., Рыжковская Е. Л., Полулях О. Е., Басалай А. А., Балашевич Т. В., Фёдорова Е. В. Структурно-функциональные механизмы реактивных изменений сосудов, внутренних органов и кожи при метаболическом синдроме и токсическом действии доксорубицина..... 283

Разводовский Ю. Е., Смирнов В. Ю., Дорошенко Е. М., Максимович Н. Е., Семененя И. Н. Влияние блокады синтеза монооксида азота метиловым эфиром N-нитро-L-аргинина (L-NAME) на содержание свободных аминокислот и биогенных аминов в коре головного мозга крыс при субтотальной ишемии головного мозга 291

Гусакова Е. А., Городецкая И. В. Соматические и поведенческие реакции у крыс в условиях моделирования стресса «дефицита времени» 298

Ильин И. А. Эзофагоколопластика с планированием при хирургическом лечении карцином пищевода и пищеводно-желудочного перехода 307

Комиссаров К. С., Дмитриева М. В., Летковская Т. А., Пилотович В. С., Краско О. В. Иммунофлуоресцентная микроскопия у пациентов с IgA-нефропатией..... 317

Нечипуренко Н. И., Сидорович Р. Р., Пашковская И. Д., Степанова Ю. И., Змачинская О. Л., Прокопенко Т. А. Диагностическая значимость биохимических маркеров развития эпилептических приступов при артериальных аневризмах..... 324

Пыж А. Э., Чуприна А. В., Ясюченя Р. Н. Влияние пищевых добавок на выживаемость штаммов кишечной палочки, энтерококков, бифидобактерий и лактобацилл 332

Поклонская Н. В., Амвросьева Т. В., Шилова Ю. А., Кишкурно Е. П. Молекулярная эпидемиология энтеровирусной инфекции в Республике Беларусь в 2016–2017 гг. 339

Гурьянова И. Е., Полякова Е. А., Белевцев М. В., Алейникова О. В. Мутационный спектр гена *SERPING1* у пациентов с врожденным ангионевротическим отеком..... 349

Кузьменко-Москвина Ю. А., Бич Т. А., Брагина З. Н. Патоморфологическая гетерогенность вульварного склероатрофического лихена 357

Полуян И. А., Зинчук В. В., Глуткин С. В., Гуляй И. Э. Эффект мелатонина на прооксидантно-антиоксидантный баланс при физической нагрузке у лиц с низким уровнем физического состояния..... 365

АГЛЯДЫ

Шанько Ю. Г., Смеянович А. Ф., Булгак В. В., Сыч Е. В., Танин А. Л., Черныш Е. Ю. Современные подходы к диагностике и лечению менингиом краниовертебральной области..... 373

ISSN 1814-6023 (Print)
ISSN 2524-2350 (Online)

CONTENTS

CLINICAL AND EXPERIMENTAL MEDICINE

Brankouskaya A. Y., Mitkovskaya N. P., Hunich S. V. Structural and functional condition of the cardiovascular system in patients with myocardial infarction and acute ischaemic kidney injury 263

Frolov A. V. Study of the stability of the cardiovascular system from the data of bioelectric modeling and high resolution electrocardiography 271

Archakova L. I., Kalinovskaya E. I., Kuznetsova T. E., Novakovskaya S. A., Mityukova T. A., Ryzhkovskaya E. L., Polulyakh O. E., Basalay A. A., Balashevich T. V., Fedorova E. V. Structural and functional mechanisms of reactive changes in vasoconstrictors, internal organs and skin with metabolic syndrome and toxic action of doxorubicin 283

Razvodovsky Y. E., Smirnov V. Y., Doroshenko Ye. M., Maksimovich N. Ye., Semenenya I. N. Effect of blockade of synthesis of nitric oxide by L-NAME on the level of free amino acids and biogenic amines in the brain cortex of rats with subtotal cerebral ischemia 291

Gusakova E. A., Gorodetskaya I. V. Somatic and behavioral reactions in rats under the modeling of the stress of "deficiency of time" 298

Ilyin I. A. Colonic esophagoplasty with planning in esophageal and gastroesophageal junction carcinomas surgical treatment 307

Komissarov K. S., Dmitrieva M. V., Letkovskaya T. A., Pilotovich V. S., Krasko O. V. Immunofluorescent microscopy in patients with IgA nephropathy 317

Nechipurenko N. I., Sidorovich R. R., Pashkovskaya I. D., Stepanova Y. I., Zmachinskaya O. L., Prokopenko T. A. Diagnostic significance of biomarkers of the epileptic seizures development in patients with arterial aneurysms 324

Pyzh A. E., Chuprina A. V., Yasyuchenya R. N. Effects of food additives on survival of strains *Escherichia*, *Enterococcus*, *Bifidobacteria* and *Lactobacillus* 332

Paklonskaya N. V., Amvrosieva T. V., Shilova Y. A., Kishkurno E. P. Molecular epydemiology of enterovirus infection in the Republic of Belarus in 2016–2017 339

Guryanova I. E., Paliakova K. A., Belevtsev M. V., Aleynikova O. V. Mutational spectrum of the *SERPING1* gene in patients with hereditary angioedema 349

Kuzmenka-Maskvina Y. A., Bich T. A., Bragina Z. N. Morphological diversity of vulvar lichen sclerosus 357

Poluyan I. A., Zinchuk V. V., Hlutkin S. V., Huliai I. E. Influence of melatonin on the prooxidant–antioxidant balance at physical exertion in people with low-level physical state 365

REVIEWS

Shanko Y. G., Smeyanovich A. F., Bulgak V. V., Sych E. V., Tanin A. L., Chernysh E. Y. Modern approaches to the diagnosis and treatment of meningiomas of the craniocervical junction region 373

ISSN 1814-6023 (Print)
ISSN 2524-2350 (Online)

КЛІНІЧНАЯ І ЭКСПЕРЫМЕНТАЛЬНАЯ МЕДЫЦЫНА

CLINICAL AND EXPERIMENTAL MEDICINE

УДК 616.127-005.8:616.61-005.4:616.1
https://doi.org/10.29235/1814-6023-2019-16-3-263-270

Поступила в редакцию 08.04.2019
Received 08.04.2019

Е. Ю. Бранковская[1], Н. П. Митьковская[1], С. В. Гунич[2]

[1]Белорусский государственный медицинский университет, Минск, Республика Беларусь
[2]4-я городская клиническая больница, Минск, Республика Беларусь

СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТОЙ СИСТЕМЫ ПАЦИЕНТОВ С ИНФАРКТОМ МИОКАРДА И ОСТРЫМ ИШЕМИЧЕСКИМ ПОВРЕЖДЕНИЕМ ПОЧЕК

Аннотация. Согласно эпидемиологическим исследованиям, у пациентов с инфарктом миокарда (ИМ) в большом числе случаев развивается острое повреждение почек. Эта комбинация патологий прогностически неблагоприятна и требует углубленного изучения.

В статье представлен анализ результатов электрокардиографии и ультразвукового исследования сердца, а также коронароангиографии 109 пациентов в остром периоде крупноочагового ИМ. Все обследуемые были разделены на две группы. Основную группу составили пациенты, у которых течение ИМ осложнилось развитием острого ишемического повреждения почек (n = 65), группу сравнения – пациенты с ИМ и нормальной функцией почек (n = 44). Для пациентов с ИМ и острым ишемическим повреждением почек были характерны более выраженные ишемические изменения по данным электрокардиографии**,** большие значения размеров полости левого желудочка (ЛЖ), более выраженное снижение контрактильной функции ЛЖ, более масштабное поражение коронарного русла. У пациентов основной группы отмечались также больший удельный вес пациентов с тромботической окклюзией инфаркт-связанной артерии и большая частота встречаемости поражения в передней межжелудочковой ветви левой коронарной артерии.

Ключевые слова: инфаркт миокарда, острое повреждение почек, электрокардиография, подъем сегмента ST, сократительная функция левого желудочка, коронароангиография, многососудистое поражение, окклюзия инфаркт-связанной артерии

Для цитирования: Бранковская, Е. Ю. Структурно-функциональное состояние сердечно-сосудистой системы пациентов с инфарктом миокарда и острым ишемическим повреждением почек / Е. Ю. Бранковская, Н. П. Митьковская, С. В. Гунич // Вес. Нац. акад. навук Беларусі. Сер. мед. навук. – 2019. – Т. 16, № 3. – С. 263–270. https://doi.org/10.29235/1814-6023-2019-16-2-263-270

A. Y. Brankouskaya[1], N. P. Mitkovskaya[1], S. V. Hunich[2]

[1]Belarusian State Medical University, Minsk, Republic of Belarus
[2]4th Minsk Clinical Hospital, Minsk, Republic of Belarus

STRUCTURAL AND FUNCTIONAL CONDITION OF THE CARDIOVASCULAR SYSTEM IN PATIENTS WITH MYOCARDIAL INFARCTION AND ACUTE ISCHAEMIC KIDNEY INJURY

Abstract. According to the epidemiological studies, in patients with myocardial infarction acute kidney injury develops in the majority of cases. This combination of pathologies is prognostically unfavorable and requires an in-depth study.

The article presents the examination data of the structural and functional state of the cardiovascular system of 109 patients with acute ST-segment elevation myocardial infarction (STEMI). The studied patients were divided into two groups. The main group consisted of patients, whose myocardial infarction was complicated by the development of acute ischemic kidney injury (n = 65); the comparison group included patients with myocardial infarction and normal kidney function (n = 44). The results of electrocardiography, echocardiography and coronary angiography of the studied patients were analyzed. Patients with myocardial infarction and acute ischemic kidney injury were characterized by more pronounced ischemic changes according to electrocardiography, a more pronounced decrease in local and global contractility of the left ventricle, a larger size of the left ventricular cavity, a more frequent incidence of coronary artery multivascular lesions,

© Бранковская Е. Ю., Митьковская Н. П., Гунич С. В., 2019

a greater proportion of patients with thrombotic occlusion of the associated artery infarction and a more frequent localization of the lesion in the left anterior descending artery.

Keywords: myocardial infarction, STEMI, acute kidney injury, echocardiography, left ventricular, electrocardiography, coronary angiography, multivessel coronary artery disease, thrombotic occlusion

For citation: Brankouskaya A. Y., Mitkovskaya N. P., Hunich S. V. Structural and functional condition of the cardiovascular system in patients with myocardial infarction and acute ischaemic kidney injury. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seriya meditsinskikh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2019, vol. 16, no. 3, pp. 263–270 (in Russian). https://doi.org/10.29235/1814-6023-2019-16-3-263-270

Введение. Инфаркт миокарда (ИМ) по-прежнему остается актуальной проблемой современной медицины в связи с обусловленной им преждевременной инвалидизацией и летальностью [1, 2]. У пациентов с острым ИМ имеется повышенный риск острого повреждения почек в сравнении с остальной популяцией [3–6]. Согласно результатам многочисленных исследований, даже незначительное повышение уровня креатинина в сыворотке крови является независимым фактором риска неблагоприятных исходов у пациентов с острым ИМ [7–9]. Интерес к изучению острых кардиоренальных взаимоотношений растет, так как данное сочетание патологий является крайне неблагоприятным с точки зрения прогноза [10–15].

Цель исследования – выявить особенности структурно-функционального состояния сердечно-сосудистой системы у пациентов с острым крупноочаговым инфарктом миокарда и острым ишемическим повреждением почек.

Материалы и методы исследования. В исследование было включено 109 пациентов в возрасте от 37 до 75 лет, поступивших в реанимационное отделение УЗ «Городская клиническая больница скорой медицинской помощи» г. Минска с диагнозом острый крупноочаговый ИМ. Диагностика ИМ проводилась на основании разработанных специалистами Американской коллегии кардиологов и Европейского общества кардиологов клинических, электрокардиографических и биохимических критериев, включающих типичную динамику повышения и снижения концентрации биохимических маркеров некроза миокарда (тропонин I, МВ-фракция креатинфосфокиназы) в сочетании с клинической картиной, характерной для острой ишемии миокарда, а также с формированием патологических зубцов Q на ЭКГ исходно либо в динамике. На основании функционального состояния почек на момент поступления в кардиореанимационный блок были сформированы две группы пациентов для проведения дальнейшего исследования. В основную группу вошли 65 пациентов с ИМ и острым ишемическим повреждением почек, в группу сравнения – 44 пациента с ИМ и нормальной функцией почек. Развитие острого ишемического повреждения почек у пациентов с острым крупноочаговым ИМ констатировали, если уровень креатинина при поступлении в стационар был повышен в 1,5 раза и более по сравнению с исходным (до госпитализации) при условии отсутствия хронической болезни почек и заболеваний мочевыделительной системы в анамнезе [16]. Диагностические критерии острого повреждения почек, основанные на измерении почасового диуреза, не могли быть использованы, так как у включенных в исследование пациентов отсутствовали показания для катетеризации мочевого пузыря.

В работе использовали клинические, антропометрические, лабораторные и инструментальные методы исследования. Инструментальное исследование сердечно-сосудистой системы включало проведение электрокардиографии, ультразвукового исследования сердца, селективной рентгенконтрастной коронароангиографии. После поступления пациентов в кардиореанимационный блок проводили электрокардиографические исследования в 12 отведениях, используя электрокардиограф «ЮКАРД-100». Ультразвуковое исследование сердца выполняли на аппаратах Mindray с использованием ультразвукового датчика 3,5 МГц всем пациентам в первые сутки ИМ. Исследование проводили в трех режимах: М-, В-модальном и цветном допплеровском. Рентгенконтрастное ангиографическое исследование пациентам обеих групп осуществляли в условиях рентгеноперационной с применением цифровой ангиографической установки INNOVA 3100 производства General Electric Company (США). Перед проведением коронароангиографии в обязательном порядке пациента информировали о методике проводимого исследования и о возможных осложнениях, после чего получали от него информированное согласие. Для сосудистого доступа проводили катетеризацию бедренной или лучевой артерии. В процессе выпол-

нения исследования для контрастирования коронарных артерий вводили неионный низкоосмолярный контрастный препарат «Омнипак» с концентрацией йода 350 мг/мл.

Статистическую обработку данных осуществляли с помощью статистических пакетов программ Statistica, Excel. Для сравнения двух независимых групп по количественному признаку при нормальном распределении признака использовали *t*-критерий Стьюдента, при несоответствии значений закону нормального распределения – критерий Манна–Уитни. При сравнении двух групп по качественному признаку оценивали различия между выборками по относительной частоте встречаемости признака с помощью теста χ^2. Различия в группах считали значимыми при вероятности безошибочного прогноза 95,5 % ($p < 0,05$).

Результаты и их обсуждение. В группе пациентов с ИМ и острым ишемическим повреждением почек средний возраст составил 59,2 (53,0–67,0) года, в группе с ИМ и нормальной функцией почек – 58,0 (51,0–67,0) года. Статистически значимых различий в соотношении мужчин и женщин в группах исследования не выявлено. Соотношение мужчин и женщин в группе пациентов с ИМ и острым ишемическим повреждением почек было следующим: мужчины – 76,9 % ($n = 50$), женщины – 23,1 % ($n = 15$), в группе лиц с ИМ и нормальной функцией почек: мужчины – 75,0 % ($n = 33$), женщины – 25,0 % ($n = 11$).

При анализе традиционных факторов кардиоваскулярного риска оценивали распространенность курения, артериальной гипертензии, семейного анамнеза ранней ишемической болезни сердца (ИБС), индекс массы тела (ИМТ) (табл. 1).

Т а б л и ц а 1. **Клиническая характеристика пациентов исследуемых групп**

T a b l e 1. **Clinic characteristic in the patients of the studied groups**

Показатель	Пациенты с ИФ и острым ишемическим повреждением почек ($n = 65$)	Пациенты с ИФ и нормальной функцией почек ($n = 44$)
Возраст, лет (25; 75 %)	59,2 (53,0; 67,0)	58,0 (51,0; 67,0)
Мужской пол, % (*n*)	76,9 (50)	75,0 (33)
Курение, % (*n*)	23,1 (15)	22,7 (1)
Артериальная гипертензия, % (*n*)	93,8 (61)	93,2 (41)
Семейный анамнез ранней ИБС, % (*n*)	20,0 (13)	18,2 (8)
ИМТ, кг/м^2 (25 %; 75 %)	26,9 (25,0; 29,0)	27,0 (24,2; 29,0)

Таким образом, статистически значимых различий по возрастному и половому составу, наличию традиционных факторов кардиоваскулярного риска между группами пациентов, включенных в исследование, не выявлено.

Проведен анализ показателей электрокардиографии, характеризующих выраженность ишемических изменений на первой электрокардиограмме у обследуемых пациентов (табл. 2).

Т а б л и ц а 2. **Данные электрокардиографии у пациентов исследуемых групп, Me (25 %; 75 %)**

T a b l e 2. **Electrocardiography data in the patients of the studied groups, Me (25 %; 75 %)**

Показатель	Пациенты с ИФ и острым ишемическим повреждением почек ($n = 65$)	Пациенты с ИФ и нормальной функцией почек ($n = 44$)
Максимальный подъем сегмента ST, мм	4 (3,0; 4,5)**	2,5 (2,0; 3,5)
Количество отведений с подъемом сегмента ST	4 (2; 5)**	2 (2; 3)
Количество отведений со сформированным патологическим зубцом Q	2 (2; 3)***	2 (1,5; 2)

П р и м е ч а н и е. Достоверность различия показателей при сравнении с группой лиц с ИМ и нормальной функцией почек: ** – $p < 0,01$; *** – $p < 0,001$.

Согласно результатам исследования, для группы пациентов с ИМ и острым ишемическим повреждением почек по сравнению с группой пациентов с ИМ и нормальной функцией почек были характерны достоверно более высокие значения максимального подъема сегмента

ST (3,8 (3,0; 4,5) и 2,5 (2,0; 3,5) мм соответственно, $p < 0,01$), большее количество отведений с элевацией сегмента ST (4 (2; 5) и 2 (2; 3) соответственно, $p < 0,01$), большее количество отведений со сформированным патологическим зубцом Q (2 (2; 3) и 2 (1,5; 2) соответственно, $p < 0,001$).

Выполнен сравнительный анализ основных эхокардиографических параметров у пациентов исследуемых групп (табл. 3).

Т а б л и ц а 3. **Эхокардиографические показатели у пациентов исследуемых групп, Me (25 %; 75 %)**

T a b l e 3. **Echoradiography indices in the patients of the studied groups, Me (25 %; 75 %)**

Показатель	Пациенты с ИМ и острым ишемическим повреждением почек ($n = 65$)	Пациенты с ИМ и нормальной функцией почек ($n = 44$)
Аорта, мм	33,0 (30,0; 36,0)	31,0 (29,0; 33,0)
Левое предсердие, мм	37,0 (32,0; 41,0)	35,0 (33,0; 38,0)
КСР, мм	42,0 (37,0; 47,0)***	34,0 (32,0; 37,5)
КДР, мм	53,0 (50,0; 58,0)*	50,0 (47,0; 54,0)
КДО по Simpson, мл	110,0 (95,0; 125,0)*	90,0 (80,0; 115,5)
КСО по Simpson, мл	68,0 (54,0; 80,0)***	47,0 (38,5; 66,5)
Ударный объем по Simpson, мл	52,0 (43,0; 65,0)	49,0 (42,0; 63,0)
ФВ по Simpson, %	43,0 (40,0; 49,0)***	57,0 (52,0; 62,0)

П р и м е ч а н и е. Достоверность различия показателей при сравнении с группой лиц без повторного ИМ: * – $p < 0,05$; *** – $p < 0,001$.

При изучении средних значений линейных размеров и объемных характеристик камер сердца выявлено, что в группе пациентов с острым крупноочаговым ИМ и острым ишемическим повреждением почек по сравнению с группой пациентов с ИМ и нормальной функцией почек были достоверно большие показатели конечно-систолического размера (КСР) ЛЖ – 41,0 (36,0; 45,0) мм против 34,0 (31,5; 37,5) мм, $p < 0,001$; конечно-диастолического размера (КДР) ЛЖ – 53,0 (49,0; 58,0) мм против 50,0 (47,0; 54,0) мм, $p < 0,01$; конечно-систолического объема (КСО) ЛЖ – 62,0 (50,0; 72,0) мл против 47,0 (38,5; 66,5) мл, $p < 0,01$; конечно-диастолического объема ЛЖ (КДО) – 62,0 (50,0; 72,0) мл против 47,0 (38,5; 66,5) мл соответственно, $p < 0,05$.

Анализ глобальной сократительной способности миокарда ЛЖ у пациентов исследуемых групп выявил более низкие значения фракции выброса (ФВ) миокарда ЛЖ у пациентов основной группы, чем в группе сравнения – 43,0 (40,0; 50,0) против 57,0 (52,0; 62,0) соответственно, $p < 0,001$.

При анализе показателей, характеризующих локальную сократимость ЛЖ, выявлена большая выраженность регионарных нарушений сократительной способности миокарда в основной группе, что нашло свое отражение в статистически значимо более высоких значениях индекса локальной сократимости стенок ЛЖ и суммарной сократимости пораженных сегментов в указанной группе (табл. 4).

Т а б л и ц а 4. **Эхокардиографические показатели локальной сократимости миокарда ЛЖ у пациентов исследуемых групп, Me (25 %; 75 %)**

T a b l e 4. **Echocardiographic indicators of local contractility of the myocardium of left ventricle in patients of the studied groups, Me (25 %; 75 %)**

Показатель	Пациенты с ИМ и острым ишемическим повреждением почек ($n = 65$)	Пациенты с ИМ и нормальной функцией почек ($n = 44$)
Индекс локальной сократимости стенок ЛЖ	1,69 (1,38; 2,18)***	1,19 (1,13; 1,31)
Суммарная сократимость пораженных сегментов	16 (11; 22)***	8 (6; 11,5)

П р и м е ч а н и е. Достоверность различия показателей при сравнении с группой лиц с ИМ и нормальной функцией почек: *** – $p < 0,001$.

В результате проведения топической диагностики ИМ на основании данных электро- и эхокардиографии установлен более высокий удельный вес поражений передне-перегородочной, верхушечно-боковой локализации в группе пациентов с острым крупноочаговым ИМ и острым ишемическим повреждением почек, чем в группе с нормальной функцией почек – 69,2 % (n = 45) против 29,5 % (n = 13) соответственно (χ^2 = 15,3, p < 0,001).

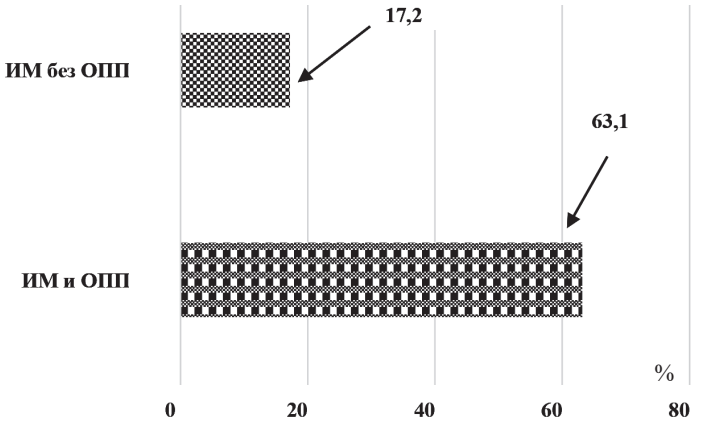


Рис. 1. Удельный вес пациентов с многососудистым поражением коронарных артерий

Fig. 1. Proportion of patients with multivessel lesions of the coronary arteries

Селективная рентгенконтрастная коронароангиография на этапе острого ИМ была выполнена всем пациентам, включенным в исследование. Проведенный нами анализ состояния коронарного русла включал определение следующих показателей: характер поражения коронарных артерий, распространенность, степень выраженности и локализацию атеросклеротического процесса.

Поражение коронарных сосудов у пациентов с ИМ и острым ишемическим повреждением почек отличалось большей масштабностью гемодинамически значимого стенозирования артерий, что проявлялось в большем удельном весе лиц с многососудистым поражением коронарных артерий, чем в группе пациентов с нормальной функцией почек – 61,5 % (n = 40) против 22,7 % (n = 10) соответственно (χ^2 = 15,9, p < 0,001) (рис. 1).

Анализ преимущественного вида поражения инфаркт-связанной артерии выявил достоверно более высокий удельный вес лиц с тромботической окклюзией инфаркт-связанной артерии в группе пациентов с ИМ и острым ишемическим повреждением почек, чем в группе пациентов с ИМ и нормальной функцией почек – 67,7 % (n = 44) против 38,6 % (n = 17) соответственно (χ^2 = 9,0, p < 0,01) (рис. 2).

Анализ топографии окклюзирующего поражения инфаркт-связанной артерии по данным коронароангиограмм показал достоверно более высокую частоту встречаемости поражения передней межжелудочковой ветви левой коронарной артерии в группе пациентов с ИМ и острым ишемическим повреждением почек, чем в группе лиц с ИМ и нормальной функцией почек – 45,5 % (n = 20) против 17,6 % (n = 3) соответственно (χ^2 = 4,0, p < 0,05) (табл. 5).

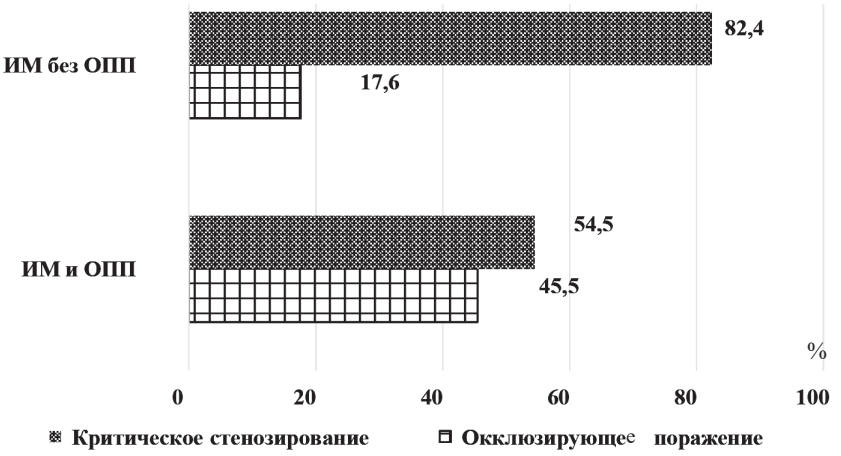


Рис. 2. Распределение обследуемых пациентов в зависимости от вида поражения инфаркт-связанной артерии по данным коронароангиограмм

Fig. 2. Distribution of the studied patients depending on the lesion type of the infarct-related artery according to coronary angiograms

Т а б л и ц а 5. **Топографическая диагностика окклюзирующего поражения инфаркт-связанной артерии у пациентов исследуемых групп по данным коронароангиографии**

T a b l e 5. **Topographic characteristics of the occlusive lesion of the infarct-related artery in the patients of the studied groups according to coronary angiography**

Показатель	Пациенты с ИМ и острым ишемическим повреждением почек (n = 65)	Пациенты с ИМ и нормальной функцией почек (n = 44)
Передняя межжелудочковая ветвь левой коронарной артерии	45,5 % (n = 20)*	17,6 % (3)
Диагональная ветвь левой коронарной артерии	4,5 % (n = 2)	5,9 % (n = 1)
Огибающая ветвь левой коронарной артерии	13,6 % (n = 6)	17,6 % (n = 3)
Ветвь тупого края	9,1 % (n = 4)	5,9 % (n = 1)
Правая коронарная артерия	31,8 % (n = 14)	52,9 % (n = 9)
Задне-боковая ветвь	2,3 % (n = 1)	0,0 % (n = 0)

П р и м е ч а н и е. * – достоверность различия показателей ($p < 0,05$) при сравнении с группой лиц с ИМ и нормальной функцией почек.

Заключение. Согласно результатам проведенного исследования, в группе пациентов, у которых ИМ сопровождался развитием острого ишемического повреждения почек, выявлены более выраженные нарушения структурно-геометрических и функциональных параметров ЛЖ по данным эхокардиографии, что проявлялось достоверно большими объемными и линейными показателями ЛЖ и большими нарушениями сократительной способности миокарда, чем в группе лиц с ИМ и нормальной функцией почек. Для пациентов основной группы была характерна большая выраженность ишемических изменений по данным электрокардиографического исследования, чем для пациентов группы сравнения. Состояние коронарного русла по результатам коронароангиографии у пациентов с острым крупноочаговым ИМ и острым ишемическим повреждением почек характеризовалось большей масштабностью гемодинамически значимого поражения коронарных артерий, что выражалось в большем удельном весе лиц с многососудистым поражением коронарных артерий, а также более высоким удельным весом тромботического окклюзирующего поражения инфаркт-связанной артерии, чем в группе пациентов с ИМ и нормальной функцией почек.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список использованных источников

1. European Society of Cardiology: Cardiovascular Disease Statistics 2017 / A. Timmis [et al.] // Eur. Heart J. – 2018. – Vol. 39, N 7. – P. 508–579. https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehx628

2. Mortality and morbidity trends after the first year in survivors of acute myocardial infarction: a systematic review / S. Johansson [et al.] // BMC Cardiovasc. Disord. – 2017. – Vol. 17, N 1. – 8 p. https://doi.org/10.1186/s12872-017-0482-9

3. Митьковская, Н. П. Кардиоренальный синдром при острой ишемической болезни сердца / Н. П. Митьковская, А. Н. Колядко, Д. М. Торопилов // Мед. журн. – 2009. – № 1. – С. 19–23.

4. Development of a novel score to predict the risk of acute kidney injury in patient with acute myocardial infarction / K. Abusaada [et al.] // J. Nehprol. – 2017. – Vol. 30, N 3. – P. 419–425. https://doi.org/10.1007/s40620-016-0326-1

5. Kaltsas, E. The incidence and the prognostic impact of acute kidney injury in acute myocardial infarction patients: current preventive strategies / E. Kaltsas, G. Chalikias, D. Tziakas // Cardiovasc. Drugs Ther. – 2018. – Vol. 32, N 1. – P. 81–98. https://doi.org/10.1007/s10557-017-6766-6

6. Acute myocardial infarction and renal dysfunction: a high-risk combination / R. Wright [et al.] // Ann. Intern. Med. – 2002. – Vol. 137, N 7. – P. 563–570. https://doi.org/10.7326/0003-4819-137-7-200210010-00007

7. Impact of point-of-care pre-procedure creatinine and eGFR testing in patients with ST segment elevation myocardial infarction undergoing primary PCI: The pilot STATCREAT study / G. V. Karamasis [et al.] // Int. J. Cardiol. – 2017. – Vol. 240. – P. 8–13. https://doi.org/10.1016/j.ijcard.2017.03.147

8. Auer, J. Editor's choice – what do small serum creatinine changes tell us about outcomes after acute myocardial infarction? / J. Auer, F. N. Verbrugge, G. Lamm // Eur. Heart J. Acute Cardiovasc. Care. – 2018. – Vol. 7, N 8. – P. 739–742. https://doi.org/10.1177/2048872617728721

9. Relation of subclinical serum creatinine elevation to adverse in-hospital outcomes among myocardial infarction patients / G. Margolis [et al.] // Eur. Heart J. Acute Cardiovasc. Care. – 2018. – Vol. 7, N 8. – P. 732–738. https://doi.org/10.1177/2048872617716389

10. Renal dysfunction on admission, worsening renal function, and severity of acute kidney injury predict 2-year mortality in patients with acute myocardial infarction / M.-J. Hsieh [et al.] // Circ. J. – 2013. – Vol. 77, N 1. – P. 217–223. https://doi.org/10.1253/circj.cj-12-0539

11. Sun, Y.-B. Assessing the influence of acute kidney injury on the mortality in patients with acute myocardial infarction: a clinical trail / Y.-B. Sun, Y. Tao, M. Yang // Ren Fail. – 2018. – Vol. 40, N 1. – P. 75–84. https://doi.org/10.1080/0886022X.2017.1419969

12. Cardiorenal syndrome as predictor of in-hospital mortality in ST-segment elevation myocardial infarction / A. E. Rodríguez-Jiménez [et al.] // Clin. Invest. Arterioscler. – 2018. – Vol. 30, N 4. – P. 163–169. https://doi.org/10.1016/j.arteri.2017.12.005

13. Long-term prognosis of acute kidney injury after acute myocardial infarction / C. R. Parikh [et al.] // Arch. Intern. Med. – 2008. – Vol. 168, N 9. – P. 987–995. https://doi.org/10.1001/archinte.168.9.987

14. Community acute kidney injury is associated with short- and long-term adverse outcomes in patients admitted with acute myocardial infarction / R. O. Mathew [et al.] // Clin. Nephrol. – 2018. – Vol. 90, N 6. – P. 404–412. https://doi.org/10.5414/CN109548

15. Pickering, J. W. Acute kidney injury and mortality prognosis in acute coronary syndrome patients: a meta-analysis / J. W. Pickering, I. R. H. Blunt, M. P. Than // Nephrology. – 2018. – Vol. 23, N 3. – P. 237–246. https://doi.org/10.1111/nep.12984

16. Khwaja, A. KDIGO clinical practice guidelines for acute kidney injury / A. Khwaja // Nephron. Clin. Pract. – 2012. – Vol. 120, N 4. – P. c179–c184. https://doi.org/10.1159/000339789

References

1. Timmis A., Townsend N., Gale C., Grobbee R., Maniadakis N., Flather M. [et al.]. European Society of Cardiology: Cardiovascular Disease Statistics 2017. *European Heart Journal*, 2018, vol. 39, no. 7, pp. 508–579. https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehx628

2. Johansson S., Rosengren A., Young K., Jennings E. Mortality and morbidity trends after the first year in survivors of acute myocardial infarction: a systematic review. *BMC Cardiovascular Disorders*, 2017, vol. 17, no. 1. 8 p. https://doi.org/10.1186/s12872-017-0482-9

3. Mitkovskaya N. P., Kolyadko A. N., Toropilov D. M. Cardiorenal syndrome in acute ischemic heart disease. *Meditsinskii zhurnal* [Medical journal], 2009, no. 1, pp. 19–23 (in Russian).

4. Abusaada K., Yuan C., Sabzwari R., Butt K., Maqsood A. Development of a novel score to predict the risk of acute kidney injury in patient with acute myocardial infarction. *Journal of Nephrology*, 2017, vol. 30, no. 3, pp. 419–425. https://doi.org/10.1007/s40620-016-0326-1

5. Kaltsas E., Chalikias G., Tziakas D. The incidence and the prognostic impact of acute kidney injury in acute myocardial infarction patients: current preventive strategies. *Cardiovascular Drugs and Therapy*, 2018, vol. 32, no. 1, pp. 81–98. https://doi.org/10.1007/s10557-017-6766-6

6. Wright R. S., Reeder G. S., Herzog C. A., Albright R. C., Williams B. A., Dvorak D. L., Miller W. L., Murphy J. G., Kopecky S. L., Jaffe A. S. Acute myocardial infarction and renal dysfunction: a high-risk combination. *Annals of Internal Medicine*, 2002, vol. 137, no. 7, pp. 563–570. https://doi.org/10.7326/0003-4819-137-7-200210010-00007

7. Karamasis G. V., Hampton-Till J., Al-Janabi F., Mohdnazri S., Parker M., Ioannou A. [et al.]. Impact of point-of-care pre-procedure creatinine and eGFR testing in patients with ST segment elevation myocardial infarction undergoing primary PCI: the pilot STATCREAT study. *International Journal of Cardiology*, 2017, vol. 240, pp. 8–13. https://doi.org/10.1016/j.ijcard.2017.03.147

8. Auer J., Verbrugge F. H., Lamm G. Editor's choice – what do small serum creatinine changes tell us about outcomes after acute myocardial infarction? *European Heart Journal: Acute Cardiovascular Care*, 2018, vol. 7, no. 8, pp. 739–742. https://doi.org/10.1177/2048872617728721

9. Margolis G., Gal-Oz A., Khoury S., Keren G., Shacham Y. Relation of subclinical serum creatinine elevation to adverse in-hospital outcomes among myocardial infarction patients. *European Heart Journal: Acute Cardiovascular Care*, 2018, vol. 7, no. 8, pp. 732–738. https://doi.org/10.1177/2048872617716389

10. Hsieh M.-J., Chen Y.-C., Chen C.-C., Wang C.-L., Wu L.-S., Wang C.-C. Renal dysfunction on admission, worsening renal function, and severity of acute kidney injury predict 2-year mortality in patients with acute myocardial infarction. *Circulation Journal*, 2013, vol. 77, no. 1, pp. 217–223. https://doi.org/10.1253/circj.cj-12-0539

11. Sun Y.-B., Tao Y., Yanga M. Assessing the influence of acute kidney injury on the mortality in patients with acute myocardial infarction: a clinical trial. *Renal Failure*, 2018, vol. 40, no. 1, pp. 75–84. https://doi.org/10.1080/0886022X.2017.1419969

12. Rodríguez-Jiménez A. E., Negrín-Valdés T., Cruz-Inerarity H., Machural-de la Torre P. J. Cardiorenal syndrome as predictor of in-hospital mortality in ST-segment elevation myocardial infarction. *Clinica Investigacion en Arteriosclerosis*, 2018, vol. 30, no. 4, pp. 163–169. https://doi.org/10.1016/j.arteri.2017.12.005

13. Parikh C. R., Coca S. G., Wang Y., Masoudi F. A., Krumholz H. M. Long-term prognosis of acute kidney injury after acute myocardial infarction. *Archives of Internal Medicine*, 2008, vol. 168, no. 9, pp. 987–995. https://doi.org/10.1001/archinte.168.9.987

14. Mathew R. O., Rangaswami J., Othersen J. B., Cai B., Asif A., Sidhu M. S., Bangalore S. Community acute kidney injury is associated with short- and long-term adverse outcomes in patients admitted with acute myocardial infarction. *Clinical Nephrology*, 2018, vol. 90, no. 6, pp. 404–412. https://doi.org/10.5414/CN109548

15. Pickering J. W., Blunt I. R. H., Than M. P. Acute kidney injury and mortality prognosis in acute coronary syndrome patients: a meta-analysis. *Nephrology*, 2018, vol. 23, no. 3, pp. 237–246. https://doi.org/10.1111/nep.12984

16. Khwaja A. KDIGO clinical practice guidelines for acute kidney injury. *Nephron. Clinical practice*, 2012, vol. 120, pp. c179–c184. https://doi.org/10.1159/000339789

Информация об авторах

Бранковская Елена Юрьевна – аспирант, врач-кардиолог. Белорусский государственный медицинский университет (пр. Дзержинского, 83, 220116, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: Lerena@yandex.ru

Митьковская Наталья Павловна – д-р мед. наук, профессор, заведующий кафедрой. Белорусский государственный медицинский университет (пр. Дзержинского, 83, 220116, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: Mitkovskaya1@mail.ru

Гунич Сергей Владимирович – заместитель главного врача. 4-я городская клиническая больница г. Минска (ул. Розы Люксембург, 110, 220089, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: Gunich1983@gmail.com

Information about the authors

Alena Y. Brankouskaya – Postgraduate student, cardiologist. Belarusian State Medical University (83, Dzerzhinski Ave., 220116, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: Lerena@yandex.ru

Natalya P. Mitkovskaya – D. Sc. (Med.), Professor, Head of the Department. Belarusian State Medical University (83, Dzerzhinski Ave., 220116, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: Mitkovskaya1@mail.ru

Sergey V. Hunich – deputy chief physician. 4th Minsk Clinical Hospital (110, Roza Liuksiemburh Str., 220089, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: Gunich1983@gmail.com

ISSN 1814-6023 (Print)
ISSN 2524-2350 (Online)

УДК 57.054:616.127-07-08
https://doi.org/10.29235/1814-6023-2019-16-3-271-282

Поступила в редакцию 29.10.2018
Received 29.10.2018

А. В. Фролов

Республиканский научно-практический центр «Кардиология», Минск, Республика Беларусь

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ БИОЭЛЕКТРИЧЕСКОГО МОДЕЛИРОВАНИЯ И ЭЛЕКТРОКАРДИОГРАФИИ ВЫСОКОГО РАЗРЕШЕНИЯ ДЛЯ ХАРАКТЕРИСТИКИ УСТОЙЧИВОСТИ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТОЙ СИСТЕМЫ

Аннотация. Разработана информационная технология для выявления неустойчивых состояний сердечно-сосудистой системы на основе дисперсионных биоэлектрических моделей и электрокардиографии 4-го поколения. Созданы и сертифицированы новая аппаратура и программное обеспечение для оценки предикторов жизненно опасных аритмий. Исследованы резервы адаптации сердечной деятельности как элитных спортсменов, так и пациентов с инфарктом миокарда. Разработана модель риск-стратификации для лиц с хронической сердечной недостаточностью, корректность прогноза составила 94,7 %.

Ключевые слова: биоинформатика, биоэлектричество, прогнозирование, электрокардиография

Для цитирования: Фролов, А. В. Использование биоэлектрического моделирования и электрокардиографии высокого разрешения для характеристики устойчивости сердечно-сосудистой системы / А. В. Фролов // Вес. Нац. акад. навук Беларусі. Сер. мед. навук. – 2019. – Т. 16, № 3. – С. 271–282. https://doi.org/10.29235/1814-6023-2019-16-3-271-282

A. V. Frolov

Republican Scientific and Practical Center "Cardiology", Minsk, Republic of Belarus

STUDY OF THE STABILITY OF THE CARDIOVASCULAR SYSTEM FROM THE DATA OF BIOELECTRIC MODELING AND HIGH RESOLUTION ELECTROCARDIOGRAPHY

Abstract. The information technology has been developed for detecting unstable states of the cardiovascular system based on dispersive bioelectric models and 4th generation electrocardiography. New equipment and software for assessing predictors of life-threatening arrhythmias have been created and certified. The reserves of cardiac activity adaptation from elite athletes to patients with myocardial infarction have been studied. A risk stratification model has been developed for patients with chronic heart failure, the forecast correctness was 94.7 %.

Keywords: bioinformatics, bioelectricity, prognostication, electrocardiography

For citation: Frolov A. V. Study of the stability of the cardiovascular system from the data of bioelectric modeling and high resolution electrocardiography. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seriya meditsinskikh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2019, vol. 16, no. 3, pp. 271–282 (in Russian). https://doi.org/10.29235/1814-6023-2019-16-3-271-282

Введение. Сердечно-сосудистая патология с ее многообразным спектром диагнозов лидирует в списке медико-социальных и экономических потерь современного общества. Как правило, течение таких распространенных заболеваний, как ишемическая болезнь сердца и артериальная гипертензия, приобретает хронический, эволюционный характер, иногда прерываемый опасными кризисными состояниями пациента. Особо сложную проблему представляет распознавание предвестников кризов, в том числе инфаркта миокарда, инсульта головного мозга, а также внезапной сердечной смерти (ВСС). Согласно данным о структуре смертности от ВСС в странах Евросоюза, 45 % умерших даже не имели прижизненно установленного диагноза, 40 % страдали патологией малой и средней степени тяжести и лишь 15 % умерших находились в фокусе внимания клинической медицины [1]. В Беларуси такая статистика отсутствует, однако ситуация вряд ли более позитивная. Более чем в 80 % случаев первопричинами ВСС являются спонтанно развивающиеся желудочковые тахикардия и фибрилляция. Данный факт свидетельствует о том, что механизмы внезапного развития жизненно опасных желудочковых тахиаритмий до сих пор полностью не раскрыты, а используемые методы прогнозирования далеки от совершенства. Поиск решений ведется на разных уровнях – молекулярно-генетическом, клеточном и органном.

© Фролов А. В., 2019

Одним из перспективных направлений при поиске причинно-следственных связей жизненно опасных аритмий является исследование биофизических моделей на уровне клеток сердца – кардиомиоцитов. Первая биофизическая модель трансфера ионов через мембраны клеток аксонов кальмара была разработана А. Ходжкиным и Э. Хаксли еще в 1952 г. [2]. Позже данная модель была ими адаптирована для кардиомиоцитов. Однако ранние биофизические модели были линейными и не способны были раскрыть природу скачкообразных нарушений сердечного ритма. По этой причине до настоящего времени интенсивно развиваются нелинейные модели, описывающие трансфер ионов Na, K, Ca через мембраны кардиомиоцитов [3–5]. Установлено, что потенциал действия (ПД) сердечной клетки может быть неустойчивым, а частота сердечного ритма может скачкообразно изменяться в соотношениях 2:1, 3:1, 1:2 [6]. Нелинейностью объясняется то, что микрофлуктуации ПД отдельных кардиомиоцитов могут порождать макрофлуктуации при распространении в миокарде волн re-entry в фазах де- и реполяризации. Данный вывод послужил толчком к развитию нового направления в электрофизиологии сердца, суть которого заключается в извлечении полезной информации из beat-to-beat микроколебаний параметров поверхностной электрокардиограммы (ЭКГ). С начала XXI в. интенсивно исследуются явления электрической нестабильности миокарда на основе изучения микроколебаний амплитудных и временных параметров ЭКГ. Маркеры электрической нестабильности миокарда убедительно доказали свою эффективность при прогнозировании неблагоприятных состояний в кардиологии и неврологии [7, 8].

Современные молекулярно-генетические и радиоизотопные технологии по причине дороговизны и высокой трудоемкости вряд ли станут массовыми, а следовательно, не смогут существенно повлиять на статистику медико-социальных потерь, наносимых сердечно-сосудистой патологией. С другой стороны, ЭКГ высокого разрешения может стать массовой диагностической и прогностической информационной технологией вследствие своей простоты и доступности для всех звеньев здравоохранения.

Цель работы – исследование неустойчивых состояний сердечно-сосудистой системы и разработка программно-технического обеспечения для оценки комплекса маркеров электрической нестабильности миокарда в фазах его де- и реполяризации, а также маркеров дисфункции вегетативной нервной системы.

Материалы и методы исследования. В работе использованы биоэлектрические модели потенциала действия миокарда. Отражена связь между потенциалом действия и амплитудно-временными параметрами ЭКГ. Для получения экспериментальных данных использовали ЭКГ в 12 отведениях, 24-часовое холтеровское мониторирование ЭКГ и эхокардиографию. Для оценки микрофлуктуаций параметров ЭКГ в каждом кардиобите измеряли амплитуды зубцов P, Q, R, S и T, а также длительность интервалов RR, PQ, QRS и QT. Продолжительность записи ЭКГ составляла 5–7 мин. Для корректной оценки параметров разработан ряд оригинальных цифровых фильтров для выделения нативной ЭКГ из помех и артефактов. Блок-схема адаптивного режекторного фильтра, подавляющего наиболее мощную сетевую помеху (50 Гц), показана на рис. 1.

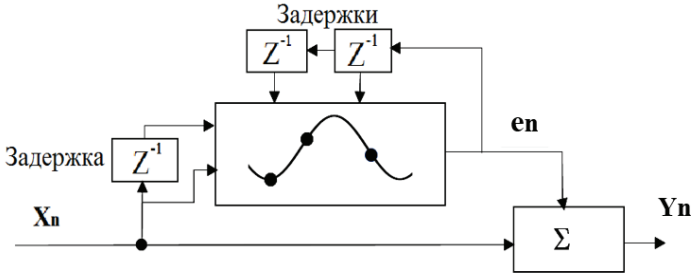


Рис. 1. Блок-схема адаптивного цифрового фильтра сетевой помехи в 50 Гц. Xn – входной сигнал, Yn – выходной сигнал, en – текущая невязка, n – индекс времени, Z – функция задержки

Fig. 1. Block diagram of the adaptive 50 Hz network noise digital filter. Xn is the input signal, Yn – output signal, en – current discrepancy, n – time index, Z – delay function

Алгоритм работы фильтра основан на минимизации текущей невязки en между реальной помехой и ее моделью, представленной в виде синусоиды с частотой 50 Гц. Выходной сигнал ЭКГ, очищенный от помехи, рассчитывали по формуле Yn = Xn – en. Фильтр автоматически адаптируется к помехе, поэтому практически не искажает полезный сигнал. На рис. 2 представлен пример адаптивной фильтрации сетевой помехи в 50 Гц из зашумленного сигнала ЭКГ.

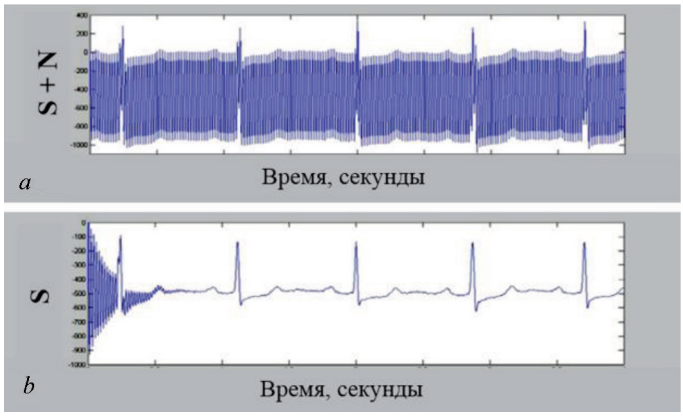


Рис. 2. Адаптивная фильтрация сетевой помехи из ЭКГ: *a* – сигнал ЭКГ на фоне помехи в 50 Гц; *b* – отфильтрованный сигнал ЭКГ (S – полезный сигнал, N – помеха)

Fig. 2. Adaptive filtering of network interference from the ECG: *a* – ECG signal in the presence of 50 Hz interference; *b* – the filtered ECG signal (S is a useful signal, N is an interference)

На таком же принципе построен фильтр, подавляющий мышечные помехи и артефакты. Дрейф изолинии, вызванный дыханием, устраняли с помощью фильтра высокой частоты.

В соответствии с международными стандартами измеряли дисперсионные параметры ЭКГ, среди которых альтернация зубца Т, дисперсия интервалов QT/JT, турбулентность сердечного ритма, замедление сердечного ритма, вариабельность сердечного ритма (ВСР) [9–13]. При интерпретации результатов использовали пороговые значения, представленные в табл. 1.

Т а б л и ц а 1. **Пороговые значения для маркеров электрической нестабильности миокарда**

T a b l e 1. **Thresholds for markers of electrical myocardial instability**

Маркер электрической нестабильности миокарда	Физиологическая норма
Длительность комплекса QRS, мс	<120
Альтернация зубца Т, мкВ	<45
Дисперсия интервала QT, мс	<70
Турбулентность сердечного ритма: onset – начало, % slope – наклон, мс/RR	 <0 >2,5
Фракция выброса (ФВ), %	>55
Замедление сердечного ритма (DC), мс	>4,5
Среднее квадратичное отклонение RR (SDNN), мс	69,6 ± 6,8
Вариационный размах сердечного ритма (MxMn), мс	259 ± 25
Стресс-индекс (Si), усл. ед.	116 ± 26
Отношение симпатовагусного баланса (LF/HF)	1,1 ± 0,3

В ходе исследований использовали сертифицированный в Минздраве РБ 12-канальный цифровой электрокардиограф «Интекард» с комплектом диагностических программ «Интекард 7» и «Бриз М» [14–16].

При разработке моделей риск-стратификации применяли метод пропорциональных рисков Кокса. Статистическую обработку выполняли с использованием пакета программ Statistica 8 (StatSoft Inc., США). При проверке статистических гипотез за критический уровень значимости принят $p = 0{,}05$.

Для оценки диагностической и прогностической значимости дисперсионных параметров ЭКГ обследовано 507 человек (от спортсменов высшей квалификации до пациентов с ишемической болезнью сердца и перенесенным инфарктом миокарда в анамнезе) с различным состоянием здоровья. В табл. 2 приведены краткие характеристики 5 групп обследованных лиц.

Т а б л и ц а 2. **Краткая характеристика обследованных**

T a b l e 2. **Brief description of the surveyed groups**

Группа обследуемых	К-во пациентов	Ср. возраст, лет	Статус
Здоровые лица			
Спортсмены высшей квалификации	117	22,5 ± 4,0	Мастер спорта, кандидат в мастера спорта
Лица без сердечно-сосудистой патологии	50	54,7 ± 5,8	
Пациенты со средней тяжестью патологии			
Стенокардия напряжения	50	56,8 ± 8,1	I–II ФК
Пациенты с тяжелой стадией патологии			
Хроническая сердечная недостаточность	240	50,5 ± 12,1	II–III ФК по NYHA
Инфаркт миокарда	50	57,9 ± 9,0	II–III ФК по NYHA
N = 507			

П р и м е ч а н и е. ФК – функциональный класс.

Результаты исследования. При традиционном подходе используется лишь часть содержащейся в ЭКГ полезной электрофизиологической информации. На рис. 3 показана диаграмма, отражающая тенденцию повышения точности измерений ЭКГ-сигнала.

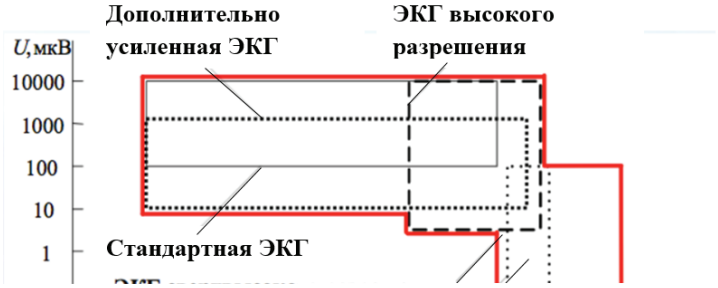


Рис. 3. Эволюция техники измерения электрокардиографических сигналов

Fig. 3. Evolution of the technique of measuring electrocardiographic signals

Если стандартная ЭКГ измеряется с чувствительностью до десятков мкВ и верхней частотой полосы пропускания 100 Гц, то ЭКГ высокого разрешения обладает чувствительностью до нескольких мкВ и частотой до 1000 Гц. Дальнейшее повышение чувствительности до долей мкВ открывает перспективу перехода к ЭКГ сверхвысокого разрешения. При этом каждый шаг расширяет диагностический потенциал электрокардиографии как общепринятого «золотого стандарта» в кардиологии. Поскольку используемый 12-канальный цифровой электрокардиограф «Интекард» синхронно регистрирует 9 каналов, имеет динамический диапазон от 0,05 до 5 мВ при уровне внутренних шумов 3–5 мкВ, полосу пропускания сигнала от 0,03 до 150 Гц, коэффициент подавления синфазной помехи 110 Дб, частоту квантования сигнала 1000 Гц, разрядность 22 бита и интерфейс связи с компьютером USB [14], его можно отнести к аппаратуре высокого разрешения.

Дисперсионные отклонения амплитудных и временных параметров ЭКГ положены в основу маркеров нестабильности миокарда, которые делятся на три группы: электрическая нестабиль-

Si – активность вазомоторного и симпатического отделов регуляции, а симпатовагусный баланс LF/HF – соотношение активности симпатического и парасимпатического отделов.

Выполнен цикл исследований применения параметров электрической нестабильности миокарда и ВСР в клинике. Обследовано 240 пациентов с хронической сердечной недостаточностью (средний возраст 50,8 ± 12,1 года, средняя фракция выброса левого желудочка 32,8 ± 10,9 %, II–III функциональный класс по NYHA (клинический материал Т. Г. Вайханской)). За 3 года наблюдения у них фиксировались неблагоприятные кардиоваскулярные события: желудочковая тахикардия, фибрилляция желудочков, ВСС, а также шоковые разряды имплантированных систем. Неблагоприятные события случились у 27,5 % пациентов. Для всех контролируемых параметров электрической нестабильности миокарда вычислены относительные риски, значения которых приведены в табл. 3.

Т а б л и ц а 3. **Значения относительного риска неблагоприятных кардиоваскулярных событий для маркеров электрической нестабильности миокарда у пациентов с хронической недостаточностью (*n* = 240)**

T a b l e 3. **Values of risk relationships of adverse cardiovascular events for markers of electrical myocardial instability in patients with chronic insufficiency (*n* = 240)**

Параметр электрической нестабильности миокарда	ОР	95 % ДИ	*p*-уровень
Неустойчивая ЖТ	5,88	2,82–13,9	0,001
Высокая альтернация Т (>45 мкВ)	2,76	1,26–6,08	0,011
Патологическая турбулентность СР	2,67	1,19–5,16	0,017
Низкая фракция выброса (<21 %)	2,43	1,21–5,02	0,020
Высокая дисперсия QT (>70 мс)	2,99	1,57–5,73	0,018
Частая экстрасистолия (>1500/24 ч)	1,91	1,10–3,98	0,032
Широкий комплекс QRS (>120 мс)	1,73	0,94–3,96	0,046
Низкое замедление СР (<4,5 мс)	1,63	0,84–2,31	0,051

П р и м е ч а н и е. ДИ – доверительный интервал, ЖТ – желу дочковая тахикардия, ОР – относительный риск, СР – сердечный ритм.

Из табл. 3 видно, что все контролируемые маркеры электрической нестабильности миокарда обладают прогностической значимостью. Значения относительного риска были не ниже 1,63. Кроме того, все упомянутые маркеры оказались статистически независимыми ($p < 0,05$), исключая замедление сердечного ритма DC. Следовательно, маркеры электрической нестабильности миокарда перспективно использовать в качестве информационной базы при разработке моделей стратификации риска жизненно опасных аритмий и ВСС.

При диагностике сердечно-сосудистой системы до сих пор нередко игнорируется влияние вегетативной нервной системы, хотя еще в 1980-е годы Р. М. Баевским с соавт., M. Malik с соавт., M. Levy с соавт., A. Malliani с соавт. и др. была доказана тесная связь дисфункций вегетативной нервной регуляции с неблагоприятными кардиоваскулярными событиями. С целью демонстрации диагностической значимости метода ВСР выполнен цикл исследований в когортах лиц с разным состоянием здоровья. Контрольная группа состояла из 50 здоровых лиц (средний возраст 54,7 ± 5,8 года). Обследовано также 117 спортсменов высшей квалификации (средний возраст 22,5 ± 4,0 года) (данные представлены Л. Н. Цехмистро). Группа лиц со средней тяжестью патологии представлена 50 пациентами со стенокардией напряжения (средний возраст 56,8 ± 8,1 года), группа лиц с тяжелой стадией патологии – 50 лицами с ишемической болезнью сердца и инфарктом миокарда в анамнезе (средний возраст 57,9 ± 9,0 года). В качестве интегрального параметра, характеризующего мощность механизмов вегетативной регуляции, использовали среднее квадратичное отклонение сердечного ритма SDNN, для оценки активности симпатического контура регуляции – стресс-индекс Si, для оценки парасимпатического контура регуляции – вариационный размах ритма MxMn. На рис. 7 отражена динамика снижения эффективности регуляторных механизмов по мере усиления тяжести патологии.

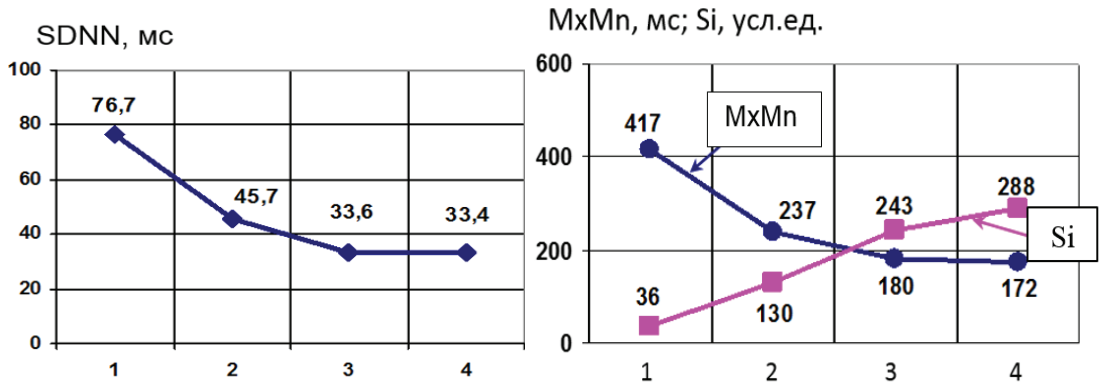


Рис. 7. Динамика общей мощности регуляторных механизмов SDNN, активности симпатического контура регуляции Si и активности парасимпатического контура MxMn в когортах обследованных: *1* – спортсмены высшей квалификации (n = 117), *2* – здоровые лица (n = 50), *3* – пациенты со стенокардией напряжения (n = 50), *4* – пациенты после инфаркта миокарда (n = 50)

Fig. 7. Dynamics of the total power of the regulatory mechanisms SDNN, the activity of the sympathetic contour of regulation of Si, and the activity of the parasympathetic contour MxMn in the cohorts examined: *1* – athletes of higher qualification (n = 117), *2* – healthy persons (n = 50), *3* – patients with angina pectoris (n = 50), *4* – patients after myocardial infarction (n = 50)

Как видно из рис. 7, по мере усиления тяжести патологии эволюционно снижается общая мощность регуляторных механизмов SDNN. Синхронно с мощностью уменьшается удельный вес активности парасимпатического контура регуляции MxMn и одновременно увеличивается удельный вес симпатического контура регуляции Si. Следовательно, утяжеление стадии патологии сопровождается доминированием симпатического типа регуляции. Такая динамика служит объективным критерием усиления напряженности регуляторных механизмов, что в свою очередь сопряжено с риском неблагоприятных кардиоваскулярных событий.

Данные ВСР, зафиксированные у спортсменов, показали, насколько велики резервы регуляторных механизмов у лиц, занимающихся спортом. В сравнении с практически здоровыми лицами у спортсменов мощность регуляторных механизмов на 67,8 % выше и в 2 раза ниже стресс-индекс Si, отражающий симпатическую активность. Это свидетельствует о том, что в покое сердце спортсмена функционирует с низкими энергетическими затратами, чего не наблюдали у практически здоровых лиц и тем более у пациентов кардиологического профиля.

Обсуждение. Обратим внимание на следующий парадокс. При чрезвычайно высокой распространенности сердечно-сосудистой патологии всего лишь у 1–2 % пациентов возникают кризисные состояния типа инфаркта миокарда, инсульта, желудочковой тахиаритмии и ВСС. У большинства пациентов болезнь приобретает затяжной, эволюционный (другими словами, доброкачественный) характер. Ставится актуальная задача: как избежать или по крайней мере оттянуть переход в кризисные состояния? Прогнозирование скачкообразных переходов является предметом исследований теории катастроф. В работе [18] представлен каскад следующих друг за другом бифуркаций: вначале синусовый сердечный ритм претерпевает ослабление колебаний (вариабельности), затем происходит учащение или урежение ритма, далее – удвоение/утроение цикла, наконец теряется связь с основным водителем ритма (что является признаком мерцательной аритмии), далее следуют желудочковая тахикардия и фибрилляция желудочков (рис. 8). Полный хаос означает разрушение системы, т. е. смерть. При этом чем ближе система приближается к зоне хаоса, тем меньшее возмущение необходимо для перехода в следующее по иерархии нестабильное состояние.

Ослабление иерархии ритмических циклов приводит к кризисным состояниям. Для их прогноза используют изученные нами маркеры электрической нестабильности миокарда, основанные на измерениях микроколебаний параметров ЭКГ в последовательности кардиобитов.



Рис. 8. Нарушения сердечного ритма в терминах теории катастроф (В. Б. Симоненко с соавт., 2013). HRV – вариабельность сердечного ритма, BPV – вариабельность артериального давления, AF – мерцательная аритмия, VT – желудочковая тахикардия, VF – фибрилляция желудочков, SCD – внезапная сердечная смерть

Fig. 8. Heart rhythm disorders in terms of the theory of catastrophes (V.B. Simonenko et al., 2013). Abbreviations: VCP – heart rate variability, VAD – blood pressure variability, MA – atrial fibrillation, VT –ventricular tachycardia, VF – ventricular fibrillation

Разработанные нами компьютерные программы позволяют создавать индивидуализированные модели риск-стратификации, основанные на комбинации маркеров нестабильности. В качестве примера приведем модель риск-стратификации кардиоваскулярных катастроф для пациентов с хронической сердечной недостаточностью [19]. На рис. 9 представлена блок-схема прогностической модели, основанная на логит-регрессии Кокса. Входными данными служили альтернация зубца Т, турбулентность сердечного ритма, дисперсия интервала QT, торможение сердечного ритма, фракция выброса, частая желудочковая экстрасистолия (>1500 в сутки) и эпизоды неустойчивой желудочковой тахикардии. При выходе значений маркеров за пределы нормы им присваивали дихотомические значения «1», в противном случае – «0». Коэффициенты модели, вычисленные из отношений рисков, приведены в табл. 4. Выходным параметром модели являлась оценка вероятности риска. Весь диапазон значений вероятности делили на 4 класса: низкий, средний, высокий и очень высокий риск.

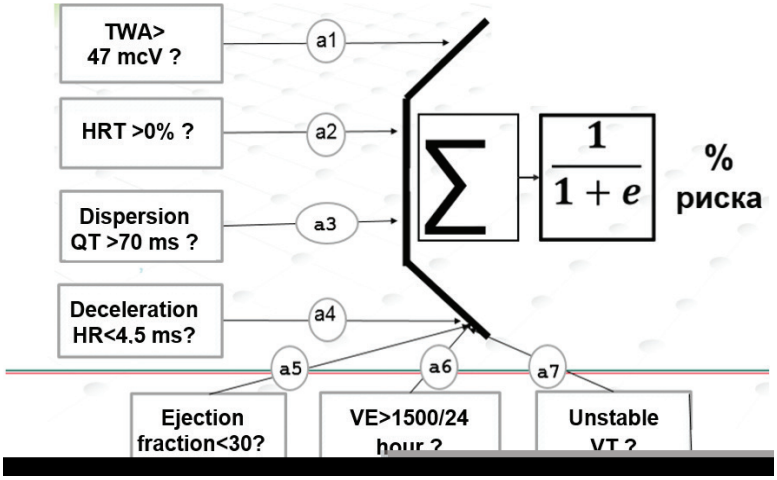


Рис. 9. Модель риск-стратификации пациентов на основе маркеров электрической нестабильности миокарда. TWA – альтернация зубца Т, HR – сердечный ритм, HRT – турбулентность сердечного ритма, VE – желудочковая экстрасистолия, VT – желудочковая тахикардия

Fig. 9. The model of risk stratification of patients on the basis of markers of electrical instability of the myocardium. GT – ventricular tachycardia, GES – ventricular extrasystole, mATB – T wave alternans, CP – heart rhythm, TCP – heart rate turbulence

ISSN 1814-6023 (Print)
ISSN 2524-2350 (Online)

УДК 612.015.3
https://doi.org/10.29235/1814-6023-2019-16-3-283-290

Поступила в редакцию 12.10.2018
Received 12.10.2018

Л. И. Арчакова, Е. И. Калиновская, Т. Е. Кузнецова, С. А. Новаковская, Т. А. Митюкова, Е. Л. Рыжковская, О. Е. Полулях, А. А. Басалай, Т. В. Балашевич, Е. В. Фёдорова

Институт физиологии НАН Беларуси, Минск, Республика Беларусь

СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ МЕХАНИЗМЫ РЕАКТИВНЫХ ИЗМЕНЕНИЙ СОСУДОВ, ВНУТРЕННИХ ОРГАНОВ И КОЖИ ПРИ МЕТАБОЛИЧЕСКОМ СИНДРОМЕ И ТОКСИЧЕСКОМ ДЕЙСТВИИ ДОКСОРУБИЦИНА

Аннотация. Проведен сравнительный анализ изменения структурной организации сосудов микроциркуляторного русла кожи и внутренних органов, а также содержания в сыворотке крови крыс адипокинов лептина, адипонектина, резистина при метаболическом синдроме (МС) и на фоне интоксикации, вызванной действием антибиотика антрациклинового ряда доксорубицина. Показано, что микроангиопатии кожи развиваются параллельно и сопоставимы с морфологическими изменениями сосудов внутренних органов, что позволяет использовать пункционную биопсию кожи как диагностический метод для определения характера и степени поражения сосудов внутренних органов при данных состояниях. Морфологические изменения при МС выражаются в гипертрофии мышечных волокон, отеке периваскулярного пространства, спазме артериол микроциркуляторного русла кожи, которые сопровождаются структурной реорганизацией органов и их сосудов по типу дистрофии. При интоксикации доксорубицином в разной степени выраженности преобладают процессы альтерации.

Установлено, что уровень адипокина лептина не всегда сопоставим с количеством жировой ткани. Следовательно, функция лептина не ограничивается регуляцией массы тела, а при процессах токсического генеза возможно усиление секреторной активности жировой ткани без увеличения объема и количества адипоцитов (скорее всего, с защитной целью, учитывая энергорегулирующую функцию данного гормона).

Ключевые слова: доксорубицин, метаболический синдром, микроциркуляторное русло, адипокины

Для цитирования: Структурно-функциональные механизмы реактивных изменений сосудов, внутренних органов и кожи при метаболическом синдроме и токсическом действии доксорубицина / Л. И. Арчакова [и др.] // Вес. Нац. акад. навук Беларусі. Сер. мед. навук. – 2019. – Т. 16, № 3. – С. 283–290. https://doi.org/10.29235/1814-6023-2019-16-3-283-290

L. I. Archakova, E. I. Kalinovskaya, T. E. Kuznetsova, S. A. Novakovskaya, T. A. Mityukova, E. L. Ryzhkovskaya, O. E. Polulyakh, A. A. Basalay, T. V. Balashevich, E. V. Fedorova

Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus

STRUCTURAL AND FUNCTIONAL MECHANISMS OF REACTIVE CHANGES IN VASOCONSTRICTORS, INTERNAL ORGANS AND SKIN WITH METABOLIC SYNDROME AND TOXIC ACTION OF DOXORUBICIN

Abstract. A comparative analysis of structural organization changes in skin microcirculatory vessels, serum level of leptin, diponectin, resistin in the ase of metabolic syndrome and doxorubicin intoxication was performed. It was shown that hypertrophy of the muscle fibers, perivascular space edema, and skin arteriole spasm in the metabolic syndrome accompanied by a structural reorganization of the organs and their vessels by the type of dystrophy. In the case of doxorubicin intoxication, the alteration processes were dominant. Changes in the level of hormones leptin adiponectin and resistin in the metabolic syndrome and doxorubicin intoxication were multidirectional.

Keywords: doxorubicin intoxication, metabolic syndrome, microcirculatory vessels, adipokines

For citation: Archakova L. I., Kalinovskaya E. I., Kuznetsova T. E., Novakovskaya S. A., Mityukova T. A., Ryzhkovskaya E. L., Polulyakh O. E., Basalay A. A., Balashevich T. V., Fedorova E. V. Structural and functional mechanisms of reactive changes in vasoconstrictors, internal organs and skin with metabolic syndrome and toxic action of doxorubicin. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seriya meditsinskikh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2019, vol. 16, no. 3, pp. 283–290 (in Russian). https://doi.org/10.29235/1814-6023-2019-16-3-283-290

Введение. Актуальность такой социально значимой проблемы, как наличие метаболического синдрома (МС), определяется угрозой инвалидизации людей работоспособного возраста и снижением общей продолжительности жизни в связи с частым развитием тяжелых сопутствующих осложнений [1–3].

выявлялись участки паренхимы и стромы органа со значительными как гемодинамическими, так и дистрофическими расстройствами, обусловленными морфофункциональными изменениями гепатоцитов и эндотелиоцитов синусоидов, а также мигрирующих в пространство Диссе клеток Купфера (рис. 1, *b*).

После введения доксорубицина гидрохлорида в печени крыс в зависимости от продолжительности эксперимента отмечались разной степени нарушения микроциркуляции, которые носили мозаичный характер: участки вазоспазма, ишемических изменений чередовались с участками полнокровия, а в дальнейшем – стазов (рис. 1, *c*, *d*). По мере прогрессирования патологического процесса в ткани печени превалировали участки полнокровия, практически не наблюдалось функционирующих синусоидов. Максимальные дистрофические и деструктивные изменения гепатоцитов и синусоидных капилляров развивались в печени крыс при хроническом действии доксорубицина (рис. 1, *d*).

Гистологическое исследование миокарда крыс при моделировании МС выявило мелкие капилляры миокарда, находящиеся в спавшемся состоянии (рис. 2, *b*). Более крупные сосуды расширены и заполнены эритроцитарными массами и аморфным содержимым. Отмечались перикапиллярный отек и расширение интерстициального пространства вокруг сосудов, гипертрофия эндотелиоцитов и выбухание их в просвет сосудов.

При гистологическом исследовании миокарда крыс, подвергшихся подострому действию доксорубицина, в стенке артерий мелкого и среднего калибра выявлены структурные изменения разнонаправленного характера. В одних сосудах отмечалось утолщение стенок за счет отека эн-

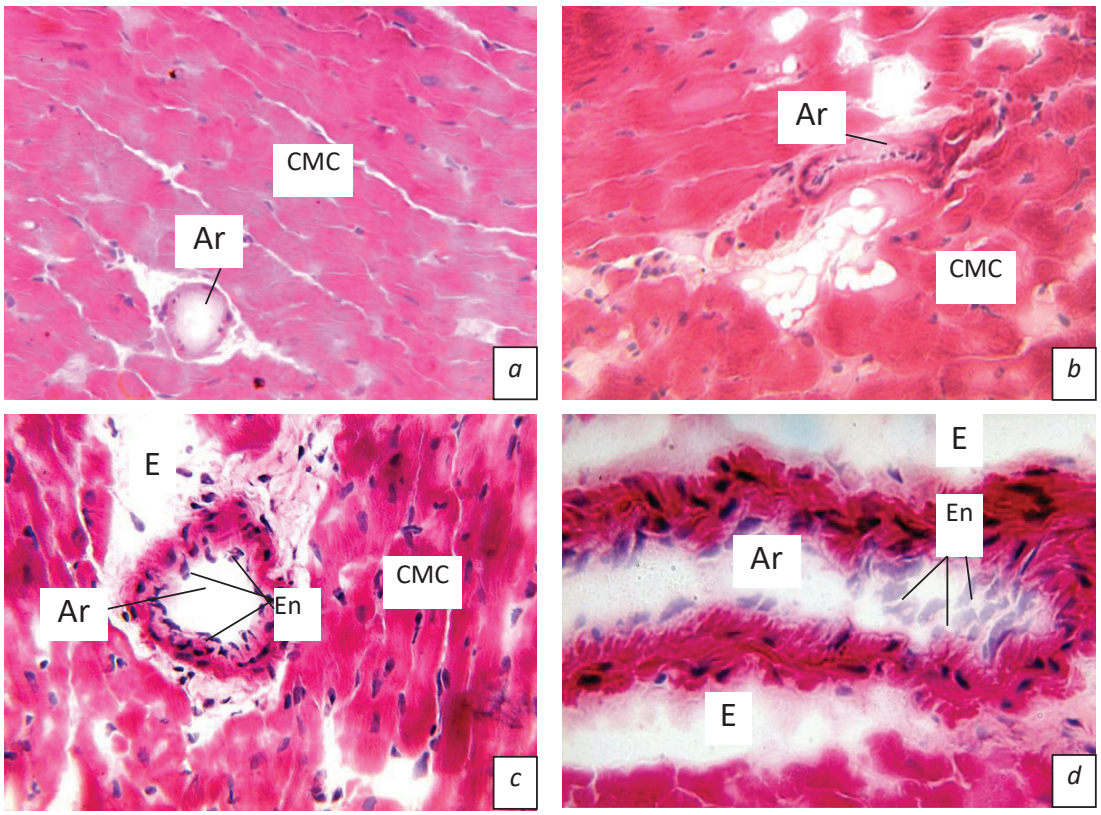


Рис. 2. Морфологические изменения микроциркуляторного русла миокарда крыс линии Вистар при МС и интоксикации антибиотиком доксорубицином (*a* – контроль, *b* – метаболический синдром, *c* – подострая интоксикация, *d* – хроническая интоксикация). En – эндотелиоциты, E – отек периваскулрного пространства, Ar – артериолы, CMC – кардиомиоциты. Окраска гематоксилин-эозином. ×400

Fig. 2. Morphological changes in the microcirculatory bed of the myocardium of Wistar rats at MS and intoxication with antibiotic doxorubicin (*a* – control, *b* – metabolic syndrome, *c* – subacute intoxication, *d* – chronic intoxication). En – endotheliocytes, E – edema of perivascular space, Ar – arterioles, CMC – cardiomyocytes. Stained with hematoxylin-eosin. ×400

дотелиоцитов и выбухания их в просвет сосудов, в других – уплотнение ядер эндотелиальных клеток за счет конденсации гетерохроматина и их сморщивания. Некоторые сосуды находились в спазмированном состоянии. Сосудистая стенка венул была истонченной и фрагментированной и на большом протяжении отмечалось ее разрушение вследствие усиленного клазматоза. Кроме того, наблюдались отек и коллагенизация перикапиллярного пространства интерстиция миокарда (рис. 2, *c*). Гистологическое исследование миокарда крыс после хронического действия доксорубицина выявило картину некробиотического поражения эндотелиоцитов сосудистой стенки артерий мелкого и среднего калибра и венозных капилляров (рис. 2, *d*).

Утолщение эндотелиальной выстилки сосудов было обусловлено дистрофией эндотелиальных клеток и выбуханием их в просвет сосудов, утолщением базальной мембраны и подэндотелиального слоя внутренней оболочки артериол. Гладкомышечные клетки стенок артериол также претерпели дистрофические изменения, вследствие чего сосудистая стенка стала рыхлой и отечной.

В большинстве сосудов микроциркуляторного русла отмечался распад эндотелиоцитов и слущивание их в просвет сосуда. Многие артериолы находились в спазмированном состоянии. Отек перикапиллярного пространства сосудов сопровождался его коллагенизацией. Микроангиопатии кожи развивались параллельно и по характеру изменений были сопоставимы с морфологическими изменениями сосудов микроциркуляторного русла внутренних органов (рис. 3).

При содержании экспериментальных животных на 8-недельной диете с высоким содержанием жиров и углеводов у них развивался МС и формировались микроангиопатии.

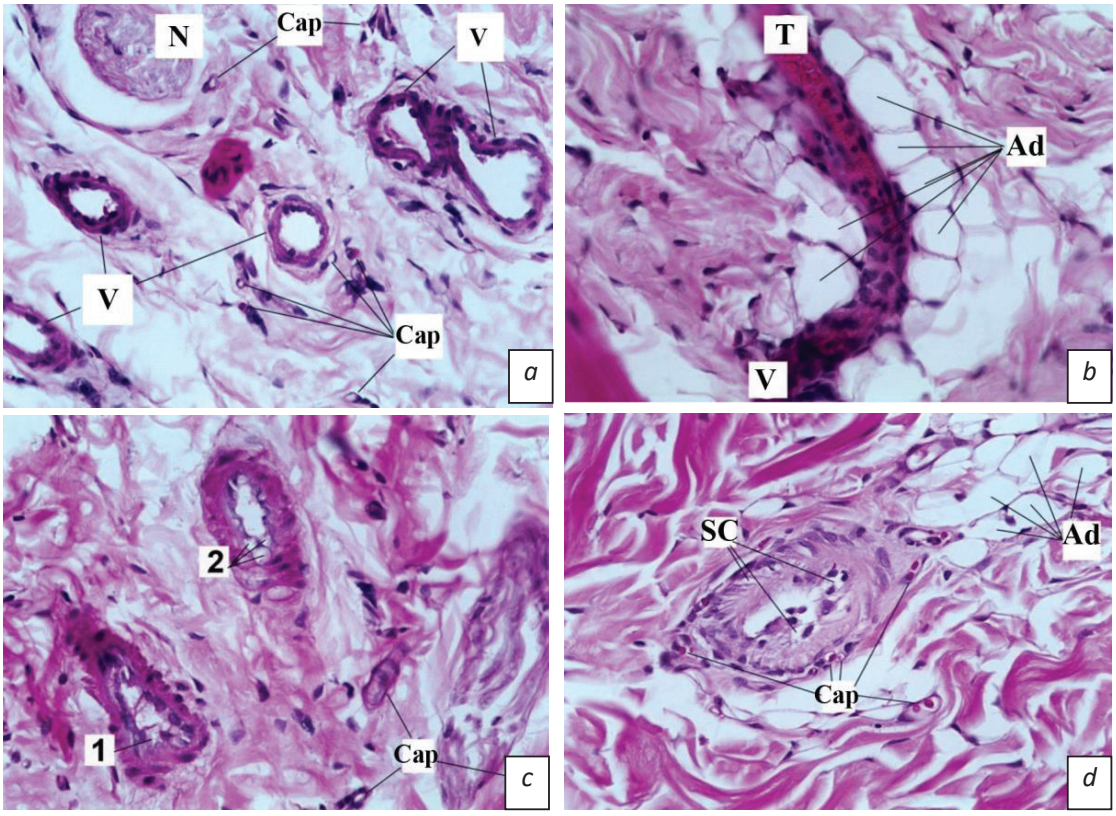


Рис. 3. Морфологические изменения микроциркуляторного русла кожи крыс линии Вистар при МС и интоксикации антибиотиком доксорубицином (*a* – контроль, *b* – метаболический синдром, *c* – подострая интоксикация, *d* – хроническая интоксикация). V – сосуды; Cap – капилляры; N – нервный стволик; T – тромб; AD – адипоциты; SC – гладкомышечные клетки; *1*, *2* – утолщение стенки сосуда. Окраска гематоксилин-эозином. ×400

Fig. 3. Morphological changes in the microcirculatory bed of Wistar rats in MS and antibiotic intoxication with doxorubicin (*a* – control, *b* – metabolic syndrome, *c* – subacute intoxication, *d* – chronic intoxication). V – vessels; Cap – capillaries; N – nerve trunks; T – thrombus; AD – adipocytes; SC – smooth muscle cells; *1*, *2* – thickness of the vessels wall. Stained with hematoxylin-eosin. ×400

Системное введение доксорубицина на разных этапах развития патологии вызывало нарушение гемодинамики кожи крыс – дилатацию и полнокровие микрососудов артериального и венозного русла, пролиферацию и дистрофические изменения эндотелиальных и гладкомышечных клеток сосудов, сладж эритроцитов.

У животных экспериментальных групп изменилось также содержание гормонов жировой ткани по сравнению с контролем (см. таблицу). Как видно из таблицы, при подострой интоксикации доксорубицином произошло достоверное повышение уровня резистина, что коррелирует с морфологическими изменениями в сосудистом русле миокарда, выражающимися в истончении и разрушении сосудистой стенки, некротическом распаде эндотелиоцитов (см. рис. 2).

Этот факт, а также полученные другими исследователями сведения о стимуляции резистином механизмов воспаления, активации эндотелия и пролиферации клеток гладкой мускулатуры сосудов дает возможность рассматривать его как маркер или даже этиологический фактор развития сосудистых осложнений при состояниях воспалительного и токсического генеза.

Изменение уровня гормонов жировой ткани и эндотелина в сыворотке крови крыс с метаболическим синдромом и при интоксикации доксорубицином ($X_{ср} \pm S_{хср}$)

Changes in the level of hormones of adipose tissue and endothelin in the blood serum of rats with metabolic syndrome and with doxorubicin intoxication ($X_{ср} \pm S_{hsr}$)

Гормон, нг/мл	Экспериментальная группа			
	Контроль (n = 8)	Метаболический синдром (n = 10)	Подострая интоксикация доксорубицином (n = 9)	Хроническая (спустя 2 мес.) интоксикация оксорубицином (n = 7)
Адипонектин	0,86 ± 0,03	0,90 ± 0,05	0,75 ± 0,09$^{\downarrow}$	1,24 ± 0,05$^{*\uparrow}$
Лептин	0,35 ± 0,05	0,19 ± 0,05$^{\downarrow}$	1,44 ± 0,30$^{*\uparrow}$	0,34 ± 0,06
Резистин	82,40 ± 6,08	71,18 ± 3,04$^{\downarrow}$	147,3 ± 15,30$^{*\uparrow}$	86,40 ± 12,80

Примечание. * – $p \leq 0,05$ по сравнению с группой контроля; ↓, ↑ – снижение и увеличение уровня гормонов соответственно.

Развитие лептинорезистентности при подострой интоксикации доксорубицином свидетельствует о том, что функции лептина не ограничиваются регуляцией массы тела, а при процессах токсического генеза может наблюдаться усиление секреторной активности жировой ткани без увеличения объема и количества адипоцитов (скорее всего, с защитной целью, учитывая энергорегулирующую функцию данного гормона).

Разнонаправленный характер изменения содержания адипонектина отмечался только при подострой и хронической интоксикации доксорубицином. Поскольку адипонектин обладает кардиопротективными и противовоспалительными функциями, повышение его уровня при хронической интоксикации может являться защитным механизмом. Предположение о том, что в последнем случае происходят менее тяжелые нарушения, подтверждается и морфологически.

Заключение. Наиболее ранние и выраженные морфологические изменения при МС и доксорубициновой интоксикации происходят в печени и миокарде. Развитие ангиопатий в сердце и печени крыс при подостром действии доксорубицина характеризуется прогрессированием процессов альтерации сосудов микроциркуляторного русла, приводящих к их разрушению и гибели. Указанные процессы протекают на фоне усиленного тромбообразования, окклюзии сосудов и развития ишемии органов.

Микроангиопатии кожи развиваются параллельно и по характеру морфологических изменений сопоставимы с микроангиопатиями внутренних органов, что позволяет использовать пункционную биопсию кожи как диагностический метод для определения характера и степени поражения сосудов внутренних органов при данных состояниях.

Уровень адипокина лептина не всегда сопоставим с количеством жировой ткани. Следовательно, функция лептина не ограничивается регуляцией массы тела, а при процессах токсического генеза может происходить усиление секреторной активности жировой ткани без увеличения объема и количества адипоцитов (скорее всего, с защитной целью, учитывая энергорегулирующую функцию данного гормона).

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список использованных источников

1. Адипокиновый и цитокиновый профили эпикардиальной и подкожной жировой ткани у пациентов с ишемической болезнью сердца / О. В. Груздева [и др.] // Бюл. эксперим. биологии и медицины. – 2017. – Т. 163, № 5. – С. 560–563.

2. Мичурина, С. В. Морфологические изменения в печени крыс Вистар с моделью алиментарного ожирения / С. В. Мичурина, Д. В. Васендин, И. Ю. Ищенко // Вестн. Иванов. мед. акад. – 2014. – Т. 19, № 4. – С. 19–22.

3. Wyatt, H. R. Update on treatment strategies for obesity / H. R. Wyatt // Clin. Endocrinol. Metabol. – 2013. – Vol. 98, N 4. – P. 1299–1306. https://doi.org/10.1210/jc.2012-3115

4. Новаковская, С. А. Морфофункциональные особенности развития микроангиопатий миокарда при метаболическом синдроме и действии доксорубицина / С. А. Новаковская, Е. И. Калиновская, Л. И. Арчакова // Строение организма человека и животных в норме, патологии и эксперименте : сб. науч. работ, посвящ. 85-летию со дня рождения проф. А. С. Леонтюка / под ред. Т. М. Студеникиной, И. А. Мельникова, В. С. Гайдука. – Минск, 2017. – С. 143–148.

5. Assays for the measurement of lipid peroxidation / A. C. Gasparovic [et al.] // Cell senescence. Methods in molecular biology (methods and protocols) / ed. : L. Galluzzi, I. Vitale, O. Kepp, G. Kroemer. – Totowa, 2013. – Vol. 965. – P. 283–296.

6. Морфологические особенности поражения микроциркуляторного русла и характер изменения уровня гормона жировой ткани висфатина у крыс на модели алиментарного ожирения / Е. И. Калиновская [и др.] // Журн. Гродн. мед. ун-та. – 2015. – № 4. – С. 48–53.

7. Косыгина, А. В. Новое в патогенезе ожирения: адипокины – гормоны жировой ткани / А. В. Косыгина, О. В. Васюкова // Проблемы эндокринологии. – 2009. – Т. 55, № 1. – С. 44–50.

8. Oral leptin supplementation throughout lactation in rats prevents later metabolic alterations caused by gestational calorie restriction / N. Szostaczuk [et al.] // Inter. J. Obesity. – 2017. – Vol. 41, N 3. – P. 360–371. https://doi.org/10.1038/ijo.2016.241

9. Кубарко, А. И. Контрастно-цветовая чувствительность зрения как биомаркер состояния гемодинамики в сосудах системного и микроциркуляторного русла / А. И. Кубарко, Н. П. Кубарко, Ю. А. Кубарко // Здравоохранение. – 2014. – № 9. – С. 57–66.

10. Detecting hypertensive retinopathy using retinal vascular geometry / A. Triantafyllou [et al.] // Hypertens. – 2015. – Vol. 33, e-Suppl. 1. – P. e102. https://doi.org/10.1097/01.hjh.0000467625.92095.c6

References

1. Gruzdeva O. V., Dyleva Y. A., Antonova L. V., Matveeva V. G., Uchasova E. G., Fanaskova E. V., Karetnikova V. N., Ivanov S. V., Barbarash O. L., Akbasheva O. E. Adipokine and cytokine profiles of epicardial and subcutaneous adipose tissue in patients with coronary heart disease. *Byulleten' eksperimental'noi biologii i meditsiny* [Bulletin of experimental biology and medicine], 2017, vol. 163, no. 5, pp. 608–611. https://doi.org/10.1007/s10517-017-3860-5

2. Michurina S. V., Vasendin D. V., Ishchenko I. Yu. Liver morphological alterations in Wistar rats with alimentary obesity model. *Vestnik Ivanovskoi meditsinskoi akademii* [Bulletin of the Ivanovo Medical Academy], 2014, vol. 19, no. 4, pp. 19–22 (in Russian).

3. Wyatt H. R. Update on treatment strategies for obesity. *Clinical Endocrinology and Metabolism*, 2013, vol. 98, no. 4, pp. 1299–1306. https://doi.org/10.1210/jc.2012-3115

4. Novakovskaya S. A., Kalinovskaya E. I., Archakova L. I. Morfological and functional specifics in the development of microangiopathies in the myocardium of rats with metabolic syndrome under the action of doxorubicin. *Stroenie organizma cheloveka i zhivotnykh v norme, patologii i eksperimente: sbornik nauchnykh rabot, posvyashchennykh 85-letiyu so dnya rozhdeniya professora A. S. Leontyuka* [The structure of the human body and animals in health, pathology and experiment: a collection of scientific works dedicated to the 85th anniversary of the birth of Professor A. S. Leontyuk]. Minsk, 2017, pp. 143–148 (in Russian).

5. Gasparovic A. C., Jaganjac M., Mihaljevic B., Sunjic S. B., Zarkovic N. Assays for the measurement of lipid. *Cell Senescence. Methods in Molecular Biology (Methods and Protocols). Vol. 965.* Totowa, 2013, pp. 283–296.

6. Kalinovskaya E. I., Kuznetsova I. V., Khapalyuk A. V., Kondrashova S. B., Pavlovets L. V., Blagun E. V., Les'ko E. S., Derevyanko I. A. Morphological features of the damage of microvasculature and changes in the levels of adipose tissue hormone visfatin in rat model of alimentary obesity. *Zhurnal Grodnenskogo meditsinskogo universiteta = Journal of the Grodno Medical University*, 2015, no. 4, pp. 48−53 (in Russian).

7. Kosygina A. V., Vasyukova O. V. New in the pathogenesis of obesity: adipokiny – hormones of adipose tissue. *Problemy endokrinologii – 2009* [Problems of endocrinology], 2009, vol. 55, no. 1, pp. 44–50 (in Russian).

8. Szostaczuk N., Priego T., Palou M., Palou A., Picó C. Oral leptin supplementation throughout lactation in rats prevents later metabolic alterations caused by gestational calorie restriction. *International Journal of Obesity*, 2017, vol. 41, no. 3, pp. 360–371. https://doi.org/10.1038/ijo.2016.241

9. Kubarko A. I., Kubarko N. P., Kubarko Yu. A. Contrast-color sensitivity as biomarker of hemodynamic condition in systemic circulation and in small vessels. *Zdravookhranenie = Healthcare,* 2014, no. 9, pp. 57−66 (in Russian).

10. Triantafyllou A., Al-Diri B., Anyfanti P., Hunter A., Douma S. Detecting hypertensive retinopathy using retinal vascular geometry. *Hypertens*, 2015, vol. 33, e-Suppl. 1, p. e102. https://doi.org/10.1097/01.hjh.0000467625.92095.c6

Информация об авторах

Арчакова Людмила Ивановна – д-р биол. наук, гл. науч. сотрудник. Институт физиологии НАН Беларуси (ул. Академическая, 28, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: novakovskaya@tut.by

Калиновская Елена Игоревна – канд. мед. наук, заведующий лабораторией. Институт физиологии НАН Беларуси (ул. Академическая, 28, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: zolotuhinaelena@mail.ru

Кузнецова Татьяна Евгеньевна – канд. биол. наук, вед. науч. сотрудник. Институт физиологии НАН Беларуси (ул. Академическая, 28, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: tania_k@mail.ru

Новаковская Светлана Алексеевна – канд. мед. наук, вед. науч. сотрудник. Институт физиологии НАН Беларуси (ул. Академическая, 28, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: novakovskaya@tut.by

Митюкова Татьяна Алексеевна – канд. биол. наук, вед. науч. сотрудник. Институт физиологии НАН Беларуси (ул. Академическая, 28, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: mityukovat@gmail.com

Рыжковская Елена Леонидовна – ст. науч. сотрудник. Институт физиологии НАН Беларуси (ул. Академическая, 28, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: ryzhkovskaya@mail.ru

Полулях Ольга Евгеньевна – науч. сотрудник. Институт физиологии НАН Беларуси (ул. Академическая, 28, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: reanzy@yandex.ru

Басалай Анастасия Александровна – мл. науч. сотрудник. Институт физиологии НАН Беларуси (ул. Академическая, 28, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: anastasiya.basalay@gmail.com

Балашевич Татьяна Викторовна – науч. сотрудник. Институт физиологии НАН Беларуси (ул. Академическая, 28, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: tbalashevich@bk.ru

Фёдорова Екатерина Викторовна – науч. сотрудник. Институт физиологии НАН Беларуси (ул. Академическая, 28, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: tania_k@mail.ru

Information about the authors

Lyudmila I. Archakova – Dr. Sc. (Biol.), Chief researcher. Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Belarus (28, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: novakovskaya@tut.by

Elena I. Kalinovskaya – Ph. D. (Med.), Head of the Laboratory. Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Belarus (28, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: zolotuhinaelena@mail.ru

Tatyana E. Kuznetsova – Ph. D. (Biol.), Leading researcher. Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Belarus (28, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: tania_k@mail.ru

Svetlana A. Novakovskaya – Ph. D. (Med.), Leading researcher. Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Belarus (28, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: novakovskaya@tut.by

Tatyana A. Mityukova – Ph. D. (Biol.), Leading researcher. Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Belarus (28, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: mityukovat@gmail.com

Elena L. Ryzhkovskaya – Senior researcher. Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Belarus (28, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: ryzhkovskaya@mail.ru

Olga E. Poluliah – Researcher. Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Belarus (28, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: reanzy@yandex.ru

Anastasia A. Basalay – Junior researcher. Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Belarus (28, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: anastasiya.basalay@gmail.com

Tatiana V. Balashevich – Researcher. Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Belarus (28, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: tbalashevich@bk.ru

Ekaterina V. Fedorova – Researcher. Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Belarus (28, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: tania_k@mail.ru

ISSN 1814-6023 (Print)
ISSN 2524-2350 (Online)

УДК 616.441.577.112
https://doi.org/10.29235/1814-6023-2019-16-3-291-297

Поступила в редакцию 05.06.2019
Received 05.06.2019

Ю. Е. Разводовский[1], В. Ю. Смирнов[1], Е. М. Дорошенко[1], Н. Е. Максимович[1], И. Н. Семененя[2]

[1]Гродненский государственный медицинский университет, Гродно, Республика Беларусь
[2]Институт биохимии биологически активных соединений НАН Беларуси, Гродно, Республика Беларусь

ВЛИЯНИЕ БЛОКАДЫ СИНТЕЗА МОНООКСИДА АЗОТА МЕТИЛОВЫМ ЭФИРОМ N-НИТРО-L-АРГИНИНА (L-NAME) НА СОДЕРЖАНИЕ СВОБОДНЫХ АМИНОКИСЛОТ И БИОГЕННЫХ АМИНОВ В КОРЕ ГОЛОВНОГО МОЗГА КРЫС ПРИ СУБТОТАЛЬНОЙ ИШЕМИИ ГОЛОВНОГО МОЗГА

Аннотация. Механизмы развития ишемического повреждения головного мозга сложны и не до конца понятны. Одним из направлений детализации патогенеза ишемического инсульта является изучение изменений фонда свободных аминокислот и биогенных аминов в различных отделах головного мозга.

Цель исследования – характеристика изменений пула аминокислот и биогенных аминов в коре головного мозга крыс при субтотальной ишемии головного мозга (СИГМ) на фоне введения блокатора синтеза монооксида азота L-NAME.

При СИГМ наблюдалось повышение в коре уровней аспартата, β-аланина, валина и лейцина, а также снижение концентраций глутамата, аспарагина, треонина, гамма-аминомасляной кислоты (ГАМК), тирозина и 5-оксииндолилуксусной кислоты (5-ОИУК). Введение L-NAME, несмотря на нормализацию нарушенных СИГМ уровней аспартата, глутамата, аспарагина, метионина, ГАМК, β-аланина, 5-ОИУК, индуцировало дополнительный аминокислотный дисбаланс в коре головного мозга. Отмечалось снижение концентраций глутамина, гистидина, таурина, триптофана, фенилаланина, тирозина (по отношению к СИГМ), а также повышение уровней треонина и аргинина. Выраженность аминокислотного дисбаланса, индуцируемого введением L-NAME при СИГМ, была гораздо выше, чем выраженность аминокислотного дисбаланса, индуцированного СИГМ.

Ключевые слова: свободные аминокислоты, биогенные амины, кора головного мозга, субтотальная ишемия головного мозга

Для цитирования: Влияние блокады синтеза монооксида азота метиловым эфиром N-нитро-L-аргинина (L-NAME) на содержание свободных аминокислот и биогенных аминов в коре головного мозга крыс при субтотальной ишемии головного мозга / Ю. Е. Разводовский [и др.] // Вес. Нац. акад. навук Беларусі. Сер. мед. навук. – 2019. – Т. 16, № 3. – С. 291–297. https://doi.org/10.29235/1814-6023-2019-16-3-291-297

Y. E. Razvodovsky[1], V. Y. Smirnov[1], Ye. M. Doroshenko[1], N. Ye. Maksimovich[1], I. N. Semenenya[2]

[1]Grodno State Medical University, Grodno, Republic of Belarus
[2]Institute of Biologically Active Substances of the Academy of Sciences of Belarus, Grodno, Republic of Belarus

EFFECT OF BLOCKADE OF SYNTHESIS OF NITRIC OXIDE BY L-NAME ON THE LEVEL OF FREE AMINO ACIDS AND BIOGENIC AMINES IN THE BRAIN CORTEX OF RATS WITH SUBTOTAL CEREBRAL ISCHEMIA

Abstract. Mechanisms of development of ischemic stroke are complex and have not been fully established. The aim of this study was to estimate the changes in the pool of free amino acids and biogenic animes in the brain cortex of rats with subtotal cerebral ischemia (SCI) and treated with L-NAME. Experiment was made on 18 rats: 12 animals were undergoing bilateral filament occlusion of arteries carotid, 6 of them were treated with L-NAME. The analyses of free amino acids levels in the blood plasma extracts were carried out by reversed phase HPLC.

Concentrations of several amino acids were elevated during SCI including aspartate, β-alanine, valine and leucine. In contrast, the levels of glutamate, asparagine, treonine, gamma-aminobutiric acid, tyrosine and 5-hydroxiindolylacetate were decreased. The administration of L-NAME partially prevented the imbalance of the amino acids pool due to SCI by normalizing the levels of aspartate, glutamate, asparagine, methionine, gamma-aminobutiric acid, β-alanine, 5-hydroxiindolylacetate. However, the administration of L-NAME has induced an additional imbalance in the amino acids pool in the brain cortex (decrease in the levels of glutamine, histidine, taurine, tryptophan, phenylalanine, tyrosine (in comparison to SCI) and decrease in the levels of treonine and arginine. The imbalance of the amino acids pool induced by the administration of L-NAME during SCI is more severe than the imbalance caused by SCI.

Keywords: amino acids, biogenic amines, brain cortex, subtotal cerebral ischemia

For citation: Razvodovsky Y. E., Smirnov V. Y., Doroshenko Ye. M., Maksimovich N. Ye., Semenenya I. N. Effect of blockade of synthesis of nitric oxide by L-NAME on the level of free amino acids and biogenic amines in the brain cortex of rats with subtotal cerebral ischemia. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seriya meditsinskikh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2019, vol. 16, no. 3, pp. 291–297 (in Russian). https://doi.org/10.29235/1814-6023-2019-16-3-291-297

Введение. Механизмы развития ишемического повреждения головного мозга сложны и не конца понятны. В патогенезе ишемического инсульта выделяют так называемые стадии биохимического каскада, включающие энергодефицит, глутаматную и аспартатную эксайтотоксичность, окислительный стресс, воспаление, апоптоз [1–3]. Оксид азота является многофункциональным биологическим медиатором, играющим важную роль в поддержании гомеостаза, включая участие в передаче сигнала, контроле гемодинамики, регуляции клеточной пролиферации, процессах воспаления и свободнорадикального окисления [4]. Моделирование дефицита оксида азота с помощью блокатора его синтеза N-нитро-L-аргининметилового эфира (L-NAME) приводит к развитию артериальной гипертензии, гипертрофии кардиомиоцитов, увеличению коэффициента эндотелиальной дисфункции [5]. На основе экспериментальных исследований, проведенных с использованием селективных и неселективных ингибиторов различных изоформ NO-синтазы, установлена неоднозначная роль оксида азота различного происхождения в реализации повреждающих (прооксидантных, протромботических, провоспалительных и др.) и защитных (антиоксидантных, антитромботических, антивоспалительных и др.) механизмов при ишемических повреждениях головного мозга [6, 7].

Одним из направлений детализации патогенеза ишемического инсульта является изучение изменений аминокислотного фонда в различных отделах головного мозга [8]. Аминокислоты и их производные (в частности, биогенные амины) играют важную роль в функционировании головного мозга как в норме, так и при патологии, участвуя в биосинтезе мембранных белков, сигнальных молекул, гормонов и регуляторных пептидов [9].

Цель исследования – характеристика изменений пула аминокислот и биогенных аминов в коре головного мозга крыс при субтотальной ишемии головного мозга на фоне введения L-NAME.

Материалы и методы исследования. Эксперименты выполнены на 18 белых беспородных крысах-самках (по 6 животных в каждой группе) массой 180–220 г. Крысам опытных групп моделировали субтотальную ишемию головного мозга (СИГМ) путем перевязки обеих общих сонных артерий в течение 1 ч. Препарат L-NAME в дозе 5 мг/кг вводили внутривенно непосредственно перед перевязкой общих сонных артерий. Контрольную группу составили ложнооперированные животные, получавшие эквиобъемное количество изотонического раствора NaCl. Все оперативные манипуляции проводили в условиях внутривенного тиопенталового наркоза (60 мг/кг). После декапитации животных кровь немедленно собирали в гепаринизированные пробирки и центрифугировали 15 мин при скорости 3000 g. К полученной плазме добавляли равный объем среды, содержащей 1 М хлорную кислоту, ЭДТА (25 мг/л) и δ-аминовалериановую кислоту (250 мкмоль/л). После центрифугирования (15 мин при 13 000 g и +4 ºС) сразу же производили забор полученного супернатанта. В спектр определяемых соединений входили протеиногенные аминокислоты, орнитин, цитруллин и ряд родственных соединений (таурин, α-аминобутират и др.). Анализ проводили на хроматографе Agilent 1100 методом обращенно-фазной высокоэффективной жидкостной хроматографии с предколоночной дериватизацией *о*-фталевым альдегидом и 3-меркаптопропионовой кислотой в Na-боратном буфере [11, 12]. Фотометрическое детектирование выполняли на длине волны 338 нм. В работе использовали колонку Zorbax Eclipse Plus C18, 3,5 мкм, 2,1×150 мм, подвижные фазы A и D (0,1 М Na-ацетатный буфер, pH 6,25 и 5,75 соответственно, с добавлением 20 мг/л ЭДТА и азида Na), подвижные фазы B и C (60 %-ные водные растворы ацетонитрила и метанола). Разделение проводили путем градиентного элюирования за 78 мин при температуре колонки 34 °С. Для идентификации и количественного анализа использовали программу Agilent ChemStation B.04.01. Калибровку метода осуществляли с применением стандартной смеси аминокислот фирмы Sigma-Aldridge. В работе использовали реактивы квалификации не ниже хч. Тридистиллированную воду для подвижных фаз пропускали

через патрон Norganic (Millipore, США), растворы фильтровали через мембранный фильтр с размером пор 0,22 мкм.

Статистическую обработку данных проводили с помощью программы R. В случае выполнения условий применимости (нормальность выборок и гомогенность дисперсий) применяли параметрический дисперсионный анализ с поправкой Тьюки на множественность сравнений (данные для этих переменных представлены в таблицах в виде среднего арифметического ± стандартной ошибки среднего арифметического). В случае невыполнения этих условий применяли непараметрический дисперсионный анализ Краскела–Уоллиса с поправкой Беньямини–Хохберга на множественность сравнений (в таблицах для этих переменных приведены значения медианы и квартилей). Использовали также корреляционный и линейный дискриминантный анализ.

Результаты и их обсуждение. При субтотальной ишемии головного мозга в коре головного мозга наблюдалось повышение уровней аспартата, β-аланина, валина и лейцина, а также снижение концентраций глутамата, аспарагина, треонина, ГАМК, тирозина (табл. 1) и 5-ОИУК (табл. 2). Изменения касались в основном незаменимых и нейроактивных аминокислот (табл. 3) и вызвали обеднение общего пула свободных аминокислот коры головного мозга. Анализ интегральных показателей аминокислотного фонда выявил также рост соотношения аминокислот с разветвленной углеводородной цепью (АРУЦ) и ароматических аминокислот (ААК) (табл. 3).

Т а б л и ц а 1. **Концентрация аминокислот и их производных в коре головного мозга крыс при субтотальной ишемии головного мозга на фоне введения L-NAME, нмоль/г**

T a b l e 1. **Concentration of amino acids and their derivatives in the brain cortex of rats with subtotal cerebral ischemia treated with L-NAME, nmol/g**

Аминокислоты и их производные	Контроль	СИГМ	СИГМ + L-NAME
Аспартат	1900 ± 169	2510 ± 131*	2050 ± 146
Глутатион	81,7 ± 18,5	65 ± 10,9	66,4 ± 14,4
Глутамат	8470 ± 318	6370 ± 221*	7390 ± 379
Аспарагин	51 ± 2,88	39,5 ± 1,26*	48,3 ± 1,48†
Серин	686 ± 21,2	653 ± 14,2	716 ± 16,1
Глутамин	2320 ± 134	2540 ± 115	1930 ± 83,4†
Гистидин	87,4 ± 6,97	95,2 ± 5,77	62,4 ± 1,8*†
Гомосерин	13,6 ± 1,35	12,1 ± 0,667	12 ± 0,596
Глицин	594 ± 53,9	509 ± 25,2	557 ± 27,9
Фосфоэтаноламин	952 ± 76,1	946 ± 53,5	1110 ± 40,6
Треонин	311 (302/321)	131 (120/149)*	553 (450/621)*†
Цитруллин	17,7 (12,4/25,6)	18,5 (18,1/23)	18,2 (15/19)
Аргинин	65,1 ± 3,74	83,6 ± 5,35	105 ± 6,23*†
β-Аланин	17,7 ± 1,55	40,5 ± 3,96*	23,8 ± 2,94†
Аланин	654 ± 24,8	619 ± 46,6	689 ± 33,2
Таурин	4660 ± 342	3890 ± 150	3740 ± 172*
Гамма-аминомасляная кислота	1840 ± 47,2	1470 ± 93,6*	2150 ± 109†
Тирозин	35 ± 1,75	20,2 ± 0,954*	14,7 ± 0,72*†
Этаноламин	658 ± 13,1	662 ± 16,7	704 ± 18,8
Валин	50,4 (46/54,9)	65,5 (64,3/67,3)*	66,5 (63,8/69,6)*
Метионин	29,5 ± 4,07	18,8 ± 0,817*	24,3 ± 1,57
Цитрулин	51,8 ± 5,31	37,4 ± 3,55	45,8 ± 2,36
Триптофан	15,3 ± 1,7	13,8 ± 1,08	10,4 ± 0,85*
Фенилаланин	41,6 ± 2,73	41,6 ± 2,55	32,6 ± 0,582*†
Изолейцин	23,6 ± 3	28,9 ± 1,51	30,3 ± 2,22
Лейцин	60,8 ± 4,14	79,5 ± 4,37*	80,3 ± 5,41*
Орнитин	14,1 ± 1,03	15,1 ± 0,666	14,8 ± 0,505
Лизин	104 ± 8,8	75 ± 5,48	94,4 ± 9,36

П р и м е ч а н и е. Достоверность различий ($p < 0,05$): * – при сравнении с контролем; † – при сравнении с СИГМ. То же в табл. 2, 3.

Т а б л и ц а 2. **Концентрация биогенных аминов и их производных в коре головного мозга крыс при субтотальной ишемии головного мозга на фоне введения L-NAME, пмоль/г**

T a b l e 2. **Concentration of biogen amines and their derivatives in the brain cortex of rats with subtotal cerebral ischemia treated with L-NAME, pcmol/g**

Амины и их производные	Контроль	СИГМ	СИГМ + L-NAME
Диоксифенилаланин	13,7 ± 3,58	20,5 ± 2,85	35,6 ± 11,8
Норадреналин	1380 ± 127	1200 ± 74,9	1010 ± 97,6
3-Метокси-4-фенилэтиленгликоль	34,5 ± 6,92	32 ± 10,2	25,3 ± 6,09
5-Окситриптофан	9,96 ± 0,78	10,6 ± 0,955	9,51 ± 0,56
Норметанефрин	41,8 ± 5,28	35,8 ± 5,12	55,5 ± 9,3
Диоксифенилуксусная кислота	335 (309/407)	351 (340/381)	404 (251/502)
Дофамин	1050 ± 648	346 ± 33	548 ± 156
5-Оксииндолилуксусная кислота	1190 (1010/1900)	857 (790/942)*	903 (816/1120)
Гомованилиновая кислота	320 (317/608)	408 (353/434)	407 (336/738)
Серотонин	911 ± 136	616 ± 52,1	564 ± 112

Т а б л и ц а 3. **Интегральные показатели аминокислотного фонда коры головного мозга крыс при субтотальной ишемии головного мозга на фоне введения L-NAME**

T a b l e 3. **Integral parameters of the pool of amino acids in the brain cortex of rats with subtotal cerebral ischemia treated with L-NAME**

Аминокислоты	Контроль	СИГМ	СИГМ + L-NAME
ААК	97,2 (91,7/99,3)	72,6 (68,7/83,1)*	56,4 (53,5/60,9)*†
АРУЦ	133 (114/142)	178 (174/182)*	180 (167/189)*
Заменимые	14700 ± 462	13300 ± 314	13400 ± 446
Незаменимые	714 ± 47,6	551 ± 16,7*	935 ± 53,7*†
Гликогенные	15200 ± 474	13600 ± 311*	14200 ± 414
Кетогенные	165 ± 10,2	155 ± 5,83	175 ± 14,2
Нейротрансмиттерные	17500 ± 440	14700 ± 437*	15900 ± 413
Возбуждающие	10400 ± 393	8880 ± 306*	9450 ± 412
Тормозные	7090 ± 420	5870 ± 220*	6440 ± 211
АРУЦ/ААК	1,48 ± 0,0892	2,29 ± 0,0946*	3,11 ± 0,26*†
Заменимые/незаменимые	21,1 ± 1,5	24,2 ± 0,807	14,7 ± 1,29*†
Гликогенные/кетогенные	93,6 ± 5,52	88,6 ± 2,53	84,9 ± 9,58
Возбуждающие/тормозные	1,49 ± 0,115	1,52 ± 0,0585	1,48 ± 0,0853
Суммарный пул АК	22100 ± 602	19400 ± 482*	20400 ± 406

Снижение основного метаболита триптофана в мозге, 5-ОИУК, свидетельствует о торможении путей деградации серотонина. Причиной этого может быть дефицит ААК (косвенно об этом свидетельствует снижение уровня тирозина), который, в свою очередь, может быть вызван нарушением при СИГМ процессов транспорта ААК через гематоэнцефалический барьер. Это подтверждается ростом в коре головного мозга АРУЦ – конкурента ААК за общую систему транспорта.

Введение L-NAME, несмотря на нормализацию нарушенных СИГМ уровней аспартата, глутамата, аспарагина, метионина, ГАМК, β-аланина, 5-HIAA, индуцировало дополнительный аминокислотный дисбаланс в коре головного мозга. Так, отмечалось снижение уровней глутамина, гистидина, таурина, триптофана, фенилаланина, тирозина (по отношению к СИГМ), а также повышение концентраций треонина и аргинина (см. табл. 1). Таким образом, при введении L-NAME наблюдалось как усиление дефицита ААК, так и увеличение соотношения АРУЦ/ААК (табл. 3). Однако содержание незаменимых компонентов аминокислотного пула было выше контрольных значений (табл. 3). Повышение уровня аргинина можно объяснить действием L-NAME как антагониста NO-синтазы.

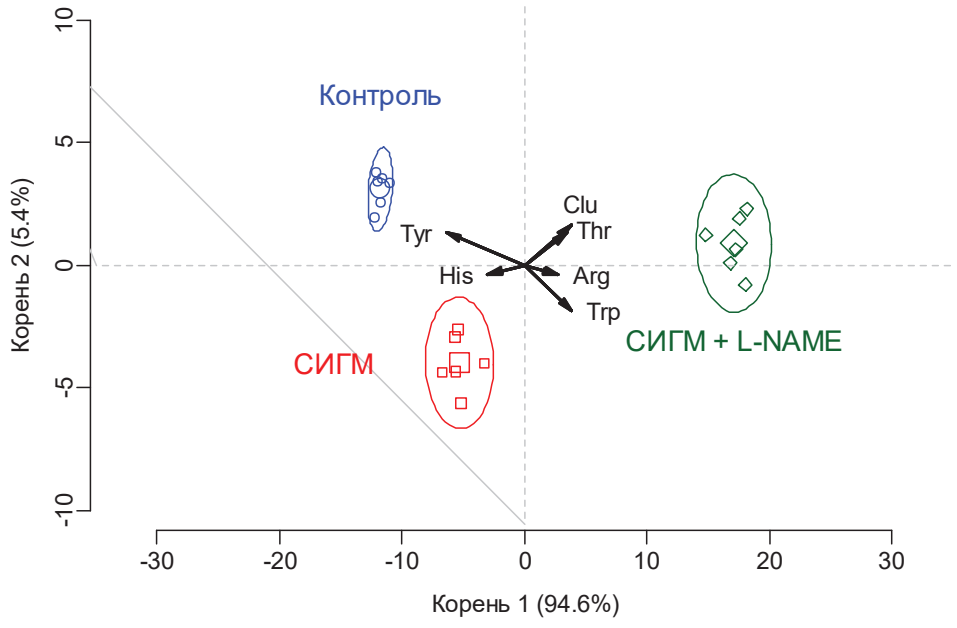
Наиболее значимыми показателями в дискриминации групп являлись тирозин, треонин, глутамат, гистидин, триптофан и аргинин ($F_{искл} > 10$) (табл. 4). При этом наборе предикторов достигалась высокодостоверная дискриминация между группами (лямбда Уилкса = 0,00047, $F = 75{,}2$, $p < 10^{-13}$).

Таблица 4. **Анализ дискриминантных функций**

Table 4. **Analysis of discriminant functions**

Аминокислота	Лямбда Уилкса	Частная лямбда Уилкса	χ^2	$F_{искл}$	p	Толерантность
Тирозин	0,0146	0,0322	52,8	150,4	0,0000000345	0,0916
Треонин	0,00542	0,0866	65,2	52,7	0,00000488	0,274
Глутамат	0,00260	0,181	74,4	22,7	0,000192	0,195
Гистидин	0,00146	0,321	81,6	10,6	0,00341	0,294
Триптофан	0,00181	0,260	79,0	14,2	0,00119	0,165
Аргинин	0,00155	0,303	80,9	11,5	0,00256	0,373

На рисунке представлено расположение групп на плоскости двух главных компонент. Видно, что наибольшие изменения происходят относительно первого корня дискриминантной функции, объясняющей более 94 % общей дисперсии. Вдоль этой оси наблюдалась максимальная дискриминация групп «Контроль» и «СИГМ» с одной стороны и группы «СИГМ + L-NAME» – с другой. Наибольший вклад в эту компоненту вносили концентрации тирозина, триптофана и глутамата. Группы «Контроль» и «СИГМ» дискриминировали только относительно второго корня, однако различия вдоль этой оси были менее выраженными, так как второй корень дискриминантной функции объясняет только 5,4 % общей дисперсии. Это свидетельствует о более выраженном влиянии на пул свободных аминокислот и родственных соединений со стороны L-NAME по сравнению с таковым для СИГМ.



Расположение канонических значений на плоскости двух главных компонент

Arrangement of the canonical values on the plane of 2 main components

Выводы

1. Субтотальная ишемия головного мозга крыс индуцирует повышение в коре головного мозга уровней аспартата, β-аланина, АРУЦ и снижение концентраций глутамата, аспарагина, треонина, ГАМК, тирозина и 5-оксииндолацетата.

2. Предварительное введение L-NAME частично нормализует нарушения, вызванные СИГМ в коре головного мозга, но вызывает аминокислотный дисбаланс, затрагивающий уровни ААК, аргинина, гистидина и таурина.

3. Выраженность аминокислотного дисбаланса, индуцируемого введением L-NAME при СИГМ, гораздо выше аминокислотного дисбаланса, индуцированного СИГМ.

Конфликт интересов. Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

Список использованных источников

1. Maksimovich, N. Ye. Tolerance of hypoxic hypoxia in rats with cerebral ischemia treated by NO-synthase modulators / N. Ye. Maksimovich // Hypoxia Med. J. – 2004. – Vol. 1–2, N 4. – P. 20–23.

2. Maksimovich, Ye. N. Epidemiology of ischemic strokes in the Grodno region (Belarus) / Ye. N. Maksimovich, T. P. Pronko, N. Ye. Maksimovich // 24 European Stroke Conference (Viena, May 13–15, 2015). – Vienna, 2015. – P. 178.

3. Кулеш, С. Д. Патогенез ишемического инсульта: биохимические механизмы и роль нейроактивных аминокислот / С. Д. Кулеш // Мед. новости. – 1998. – № 1. – С. 21–24.

4. Zabłocka, B. Enhancement of 3[H]D-aspartate release during ischemia like conditions in rat hippocampal slices:-source of excitatory amino acids / B. Zabłocka, K. Domańska-Janik // Acta Neurobiol. Exp. – 1996. – Vol. 56, N 1. – P. 63 –70.

5. Moncada, S. Nitric oxide: physiology, pathophysiology and pharmacology / S. Moncada, R. M. Palmer, E. A. Higgs // Pharmacol. Rev. – 1991. – Vol. 43, N 2. – P. 109–142.

6. Исследование эндотелиопротективных эффектов лекарственных средств различных групп на модели L-NAME индуцированного дефицита оксида азота / М. В. Покровский [и др.] // Вестн. Волгоград. гос. мед. ун-та. – 2010. – № 3. – С. 52–55.

7. Максимович, Н. Е. Роль оксида азота в патогенезе ишемических и реперфузионных повреждений мозга / Н. Е. Максимович. – Гродно : ГрГМУ, 2004. – 180 с.

8. Substantial regional and hemispheric differences in brain nitric oxide synthase (NOS) inhibition following intracerebroventricular administration of N-nitro-L-arginine (L-NA) and its methyl ester (L-NAME) / M. Salter [et al.] // Neuropharmacology. – 1995. – Vol. 34, N 6. – P. 639–649.

9. Levels of free amino acids and their derivatives in the brain cortex of rats during unilateral ischemia / Y. E. Razvodovsky [et al.] // Int. J. Neurosci. Behav. Studies. – 2017. – Vol. 1, N 1. – P. 18–21.

10. Пул свободных аминокислот плазмы крови у крыс при субтотальной ишемии головного мозга в условиях блокады синтеза монооксида азота метиловым эфиром N-нитро-L-аргинина (L-NAME) / Ю. Е. Разводовский [и др.] // Вес. Нац. акад. навук Беларусі. Сер. мед. навук. – 2019. – Т. 16, № 2. – С. 185–191.

11 Современные проблемы биохимии. Методы исследований / Е. В. Барковский [и др.] – Минск : Вышэйш. шк., 2013. – 496 с.

12. Влияние композиции аминокислот с разветвленной углеводородной цепью, триптофана и таурина на обмен аминокислот в экспериментальных моделях алкоголизма / В. Ю. Смирнов [и др.] // Укр. биохим. журн. – 2003. – Т. 75, № 4. – С. 101–107.

References

1. Maksimovich N. Ye. Tolerance of hypoxic hypoxia in rats with cerebral ischemia treated by NO-synthase modulators. *Hypoxia Medical Journal*, 2004, vol. 1–2, no. 4, pp. 20–23.

2. Maksimovich Ye. N., Pronko T. P., Maksimovich N. Ye. Epidemiology of ischemic strokes in the Grodno region (Belarus). *24 European Stroke Conference (Viena, May 13–15, 2015)*. Vienna, 2015, p. 178.

3. Kulesh S. D. Biochemical mechanisms and role of neyroactive aminoacids. *Meditsinskie novosti* [Medical news], 1998, no. 1, pp. 21–24 (in Russian).

4. Zabłocka B., Domańska-Janik K. Enhancement of 3[H]D-aspartate release during ischemia like conditions in rat hippocampal slices:source of excitatory amino acids. *Acta Neurobiologiae Experimentalis*, 1996, vol. 56, no. 1, pp. 63–70.

5. Moncada S., Palmer R. M., Higgs E. A. Nitric oxide: physiology, pathophysiology and pharmacology. *Pharmacological Reviews*, 1991, vol. 43, no. 2, pp. 109–142.

6. Pokrovskii M. V., Kochkarov V. I., Pokrovskaya T. G., Artyushkova E. B., Pashin E. N., Danilenko L. M., Korokin M. V., Belous A. S., Malykhin V. A. The study of the endothelium protective effects of drugs of different groups on the model of L-NAME induced nitric oxide deficiency. *Vestnik Volgogradskogo gosudarstvennogo meditsinskogo universiteta* [Journal of Volgograd State Medical University], 2010, no. 3, pp. 52–55 (in Russian).

7. Maksimovich N. E. *Role of nitrogen oxide in ischemic and reperfusional demages to the brain*. Grodno, Grodno State Medical University Publ., 2004. 180 p. (in Russian).

8. Salter M., Duffy C., Garthwaite J., Strijbos P. J. Substantial regional and hemispheric differences in brain nitric oxide synthase (NOS) inhibition following intracerebroventricular administration of N-nitro-L-arginine (L-NA) and its methyl ester (L-NAME). *Neuropharmacology*, 1995, vol. 34, no. 6, pp. 639–649.

9. Razvodovsky Y. E., Troyan E. I., Doroshenko E. M., Smirnov V. Yu., Maksimovich N. Ye. Levels of free amino acids and their derivatives in the brain cortex of rats during unilateral ischemia. *International Journal of Neuroscience and Behavior Studies*, 2017, vol. 1, no. 1, pp. 18–21.

10. Razvodovsky Y. E., Smirnov V. Y., Maksimovich N. Ye., Semenenya I. N. Pool of free amino acids in the blood plasma of rats undergoing subtotal cerebral ischemia after L-NAME administration. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seriya meditsinskikh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2019, vol. 16, no. 2, pp. 185–191 (in Russian).

11. Barkovskii E. V., Bokut' S. B., Borodinskii A. N., Buko V. U., Valentyukevich O. I., Gritsuk, A. I., Danchenko E. O., Doroshenko E. M., Dremza I. K., Drozdov A. S. *Contemporary problems of biochemistry. Methods of investigation*. Minsk, Vysheishaya shkola Publ., 2013. 496 p. (in Russian).

12. Smirnov V. Yu., Razvodovsky Yu. E., Doroshenko E. M., Ostrovsky S. Yu. The effect of the composition of amino acids with a branched hydrocarbon chain, tryptophan and taurine on the exchange of amino acids in experimental models of alcoholism. *Ukrainskii biokhimicheskii zhurnal* [Ukrainian biochemical journal], 2003, vol. 75, no. 4, pp. 101–107 (in Russian).

Информация об авторах

Разводовский Юрий Евгеньевич – науч. сотрудник. Гродненский государственный медицинский университет (ул. Горького, 80, 230009, г. Гродно, Республика Беларусь). E-mail: razvodovsky@tut.by

Смирнов Виталий Юрьевич – канд. биол. наук, доцент, ст. науч. сотрудник. Гродненский государственный медицинский университет (ул. Горького, 80, 230009, г. Гродно, Республика Беларусь). E-mail: vit_sm@mail.ru

Дорошенко Евгений Михайлович – канд. биол. наук, доцент, вед. науч. сотрудник. Гродненский государственный медицинский университет (ул. Горького, 80, 230009, г. Гродно, Республика Беларусь). E-mail: dqio3@mail.ru

Максимович Наталья Евгеньевна – д-р мед. наук, профессор, заведующий кафедрой. Гродненский государственный медицинский университет (ул. Горького, 80, 230009, г. Гродно, Республика Беларусь). E-mail: mne@grsmu.by

Семененя Игорь Николаевич – д-р мед. наук, профессор, директор. Институт биохимии биологически активных соединений НАН Беларуси (БЛК, 50, 230009, г. Гродно, Республика Беларусь). E-mail: insemenenya@yandex.by

Information about the authors

Yury E. Razvodovsky – Researcher. Grodno State Medical University (80, Gorky Str., 230009, Grodno, Republic of Belarus). E-mail: razvodovsky@tut.by

Vitaly Yu. Smirnov – Ph. D. (Biol.), Assistant Professor, Senior researcher. Grodno State Medical University (80, Gorky Str., 230009, Grodno, Republic of Belarus). E-mail: vit_sm@mail.ru

Evgeny M. Doroshenko – Ph. D. (Biol.), Assistant Professor, Senior researcher. Grodno State Medical University (80, Gorky Str., 230009, Grodno, Republic of Belarus). E-mail: dqio@mail.ru

Natalia Ye. Maksimovich – D. Sc. (Med.), Professor, Head of the Department. Grodno State Medical University (80, Gorky Str., 230009, Grodno, Republic of Belarus). E-mail: mne@grsmu.by

Igor N. Semenenya – D. Sc. (Med.), Professor, Director. Institute of Biochemistry of Biologically Active Substances of the National Academy of Sciences of Belarus (50, BLK, 230009, Grodno, Republic of Belarus). E-mail: insemenenya@yandex.by

ISSN 1814-6023 (Print)
ISSN 2524-2350 (Online)

УДК 612.017.2
https://doi.org/10.29235/1814-6023-2019-16-3-298-306

Поступила в редакцию 31.01.2019
Received 31.01.2019

Е. А. Гусакова, И. В. Городецкая

Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет, Витебск, Республика Беларусь

СОМАТИЧЕСКИЕ И ПОВЕДЕНЧЕСКИЕ РЕАКЦИИ У КРЫС В УСЛОВИЯХ МОДЕЛИРОВАНИЯ СТРЕССА «ДЕФИЦИТА ВРЕМЕНИ»

Аннотация. Необходимость обработки информации в жестком временном режиме неблагоприятно воздействует на функции всех систем организма. Поэтому изучение механизмов стресса «дефицита времени» является актуальной задачей современной медицины и физиологии.

Исследовано влияние стресса «дефицита времени» на соматические (относительная масса надпочечников, тимуса и селезенки, состояние слизистой оболочки желудка, уровни кортикостероидов и инсулина в крови) и поведенческие (вертикальная и горизонтальная двигательная активность) показатели стресс-реакции, физическую выносливость животных, тиреоидную функцию (сывороточная концентрация общих и свободных фракций трийодтиронина и тироксина, тиреотропного гормона).

Эксперимент выполнен на 60 белых беспородных крысах-самцах. Стресс моделировали по методике «дефицита времени». Интенсивность стресс-реакции изучали по изменениям относительной массы надпочечников, тимуса и селезенки, поражению слизистой оболочки желудка. Концентрацию гормонов определяли иммуноферментным методом. Поведение крыс исследовали в тесте «открытое поле» с использованием видеосистемы SMART и программного обеспечения SMART 3.0. Физическую выносливость изучали по времени нахождения животных на вращающемся валике ротарода.

Установлено, что стресс «дефицита времени» вызывает повышение относительной массы надпочечников на 31 %, снижение таковой тимуса и селезенки – на 26 и 14 % соответственно, повреждение слизистой оболочки желудка, изменение сывороточного содержания кортикостероидов и инсулина, а также приводит к активации функции щитовидной железы. Горизонтальная двигательная активность и физическая выносливость животных при стрессе увеличиваются, тогда как их вертикальная локомоторная и исследовательская активность падает.

Предложенная нами модель позволяет изучать механизмы развития стрессорного повреждения с целью разработки новых способов ограничения негативных последствий эмоционального стресса на здоровье человека.

Ключевые слова: эмоциональный стресс, модель, стресс-реакция, физическая выносливость

Для цитирования: Гусакова, Е. А. Соматические и поведенческие реакции у крыс в условиях моделирования стресса «дефицита времени» / Е. А. Гусакова, И. В. Городецкая // Вес. Нац. акад. навук Беларусі. Сер. мед. навук. – 2019. – Т. 16, № 3. – С. 298–306. https://doi.org/10.29235/1814-6023-2019-16-3-298-306

E. A. Gusakova, I. V. Gorodetskaya

Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University, Vitebsk, Republic of Belarus

SOMATIC AND BEHAVIORAL REACTIONS IN RATS UNDER THE MODELING OF THE STRESS OF "DEFICIENCY OF TIME"

Abstract. In experiments on 60 white outbred male rats, the effect of the stress of "deficiency of time" on somatic (relative masses of the adrenal glands, thymus and spleen, gastric mucosa, consentrations of corticosteroids and insulin in the blood) and behavioral (vertical and horizontal motor activity) indicators of stress-reactions, physical endurance of animals, thyroid function (serum concentration of total and free fractions of triiodothyronine and thyroxine, thyrotropic hormone) is considered.

As a result of the study, it was found that the stress of "deficiency of time" causes an increase in the relative mass of the adrenal glands (by 31 %), a decrease in relative masses of the thymus and spleen (by 26 and 14 %), damage to the gastric mucosa (in 80 % rats with a severity 1 point in 20 % rats, 2 or 3 points in the remaining 60 % in the 1:1 ratio; a multiplicity of 2 hemorrhages per animal in 30 %, 3 in 40 % and 4 in 10 % rats, damage index is 4.7), changes in the serum concentration of corticosteroids (increase by 43 %) and insulin (decrease by 19 %) and leads to the activation of thyroid function (age concentration of total and free triiodothyronine and thyroxin increased by 18–32 %). Under the stress of "deficiency of time", the horizontal locomotor activity and the physical endurance of animals increase, while their vertical locomotor and

© Гусакова Е. А., Городецкая И. В., 2019

exploratory activity decreases. The proposed model allows studying the mechanisms of development of stress damage in order to develop new ways to limit the negative effects of emotional stress on human health.

Keywords: emotional stress, model, stress reaction, physical endurance

For citation: Gusakova E. A., Gorodetskaya I. V. Somatic and behavioral reactions in rats under the modeling of the stress of "deficiency of time". *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seriya meditsinskikh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2019, vol. 16, no. 3, pp. 298–306 (in Russian). https://doi.org/10.29235/1814-6023-2019-16-3-298-306

Введение. Обработка больших объемов полученной информации в жестком временном режиме оказывает неблагоприятное воздействие на функции всех систем организма [1]. Поэтому изучение механизмов стресса «дефицита времени» (СДВ) является актуальной задачей современной медицины и физиологии.

Цель работы – изучить влияние стресса «дефицита времени» на соматические (относительная масса надпочечников, тимуса и селезенки, состояние слизистой оболочки желудка, уровни кортикостероидов и инсулина в крови) и поведенческие (вертикальная и горизонтальная двигательная активность) показатели стресс-реакции, физическую выносливость животных, тиреоидную функцию (сывороточная концентрация общих и свободных фракций трийодтиронина и тироксина, тиреотропного гормона).

Методы исследования. Опыты поставлены на 60 половозрелых белых беспородных крысах-самцах массой 220–240 г в осенне-зимний период. При проведении экспериментов с животными соблюдали международные правила "Guide for the care and use of laboratory animals". Крысы содержались на стандартной диете вивария, получая воду ad libitum. Все исследования проводили утром в одно и то же время.

Для моделирования СДВ нами было разработано устройство, состоявшее из пластиковой емкости и расположенного вокруг нее по спирали широкого гофрированного полиуретанового шланга, нижнее отверстие которого закрывалось пробкой и внутри которого свободно располагалась узкая полиуретановая трубка для подачи холодной (4 ºС) воды [2]. Для воспроизведения СДВ крыс, по одной особи, помещали в нижнюю часть устройства. Включали воду, скорость подачи которой контролировали положением вентиля крана. Поскольку вода быстро заполняла устройство снизу, животное было вынуждено перемещаться по ходу спирали, стараясь избегать контакта с ней. Состояние стресса формировалось за счет того, что животное должно быстро двигаться вверх, не имея возможности влиять на ситуацию.

После того как крыса достигала верхнего отверстия шланга, ее помещали в индивидуальную клетку. Пробку внизу широкого шланга открывали, воду спускали. По окончании тестирования каждого животного установку промывали большим количеством воды, что обеспечивало полное удаление продуктов его жизнедеятельности. Индивидуальное исследование физиологических реакций животного исключало возможность влияния присутствия другой особи.

Через час после стресса животных декапитировали под уретановым наркозом (1 г/кг внутрибрюшинно).

Интенсивность стресс-реакции изучали по классической триаде стресса [3] – изменению относительной массы надпочечников (1), тимуса и селезенки (2), поражению слизистой оболочки желудка (СОЖ) (3), сдвигу концентрации кортикостероидов и инсулина в крови, состоянию тиреоидной функции (по сывороточному уровню йодсодержащих тиреоидных гормонов (ЙТГ) – общих трийодтиронина (T_3), тироксина (T_4), их свободных фракций ($T_{3св}$ и $T_{4св}$), тиреотропного гормона (ТТГ)), поведенческой и исследовательской активности, а также физической выносливости животных.

Сразу после забоя крыс органы – маркеры стресса извлекали, освобождали от окружающих тканей и измеряли их массу путем взвешивания влажной ткани на торсионных весах ВТ-500. Относительную массу рассчитывали как отношение абсолютной массы органа к массе тела и выражали в мг/г. Температуру тела животных измеряли термометром медицинским электрическим «ТПЭМ-1», вводя в прямую кишку датчик на глубину 25 мм.

Для изучения состояния СОЖ крыс за сутки до эксперимента лишали пищи. Желудок удаляли, вскрывали вдоль большой кривизны и промывали физиологическим раствором. Состояние СОЖ изучали визуально в отраженном свете под малым увеличением (×5). Поражения СОЖ оценивали по их частоте (у 30 особей), тяжести и множественности (у 10 особей). Частоту повреждения изучали по отношению числа животных, имевших дефекты слизистой, к общему количеству крыс в группе и выражали в процентах. Тяжесть поражения исследовали по количеству повреждений на 1 крысу и представляли в баллах: 1 балл – площадь кровоизлияний 0–1,9 мм^2; 2 балла – 2–3,9; 3 балла – 4–5,9; 4 балла – 6–8 мм^2. Множественность определяли по отношению числа повреждений СОЖ у всех крыс к числу животных в группе и выражали количеством кровоизлияний на 1 крысу [4]. Индекс поражения СОЖ рассчитывали по сумме частоты (в долях единицы), тяжести (сумме баллов, деленной на число животных в группе) и множественности (количеству повреждений, деленному на число крыс в группе) [5].

Сывороточную концентрацию гормонов (T_3, T_4, $T_{3св}$, $T_{4св}$, ТТГ, инсулина и кортикостероидов) определяли иммуноферментным методом с помощью наборов реактивов. Рассчитывали соотношение уровней кортикостероидов и инсулина – К/И коэффициент, отражающий напряженность компенсаторных механизмов [6]. Его величину в контроле принимали за 1.

Поведение крыс исследовали в тесте «открытое поле» в течение 3 мин в затененной комнате с использованием видеосистемы SMART и программного обеспечения SMART 3.0. Горизонтальную двигательную активность животных оценивали по общей дистанции перемещения, по дистанции в периферической и центральной зонах, максимальной скорости движения, вертикальную – по количеству стоек, сделанных крысами за время теста. Исследовательскую активность животных определяли по соотношению продолжительности их пребывания и замирания в центре и на периферии «открытого поля», общей длительности замирания, числу входов в центр, латентному периоду входа в него, параллельному индексу, отражающему тенденцию к повороту. Последний показатель напрямую не зависит от расстояния и отражает изменения локомоторной активности, характерные для исследования незнакомой среды. Для его вычисления учитывали угол между текущим и предыдущим направлением движения животного. Чем ближе данный показатель к 1, тем больше перемещений по прямой; чем ближе к –1, тем больше изменений в направлении смещений, т. е. интенсивнее исследовательские реакции. Физическую выносливость изучали по времени нахождения животных на валике ротарода, вращающемся со скоростью 30–35 об/мин.

Статистическую обработку результатов исследования осуществляли с помощью программы Statistica 10.0 (StatSoft inc., STA999K347156-W). Различия по количественным параметрам анализировали с помощью *U*-критерия Манна–Уитни для попарного сравнения групп. Данные по частоте поражения СОЖ обрабатывали с использованием модулей «Непараметрические статистики», таблицы «2×2» (использовали точный критерий Фишера), данные по тяжести – с помощью модулей «Основные статистики и таблицы», «Таблицы и заголовки», «Подробные двухвходовые таблицы» (модификации критерия χ^2 – метод Пирсона и метод максимального правдоподобия). Количественные параметры представляли в виде Me (LQ; UQ), где Me – медиана (LQ; UQ) – интерквартильный интервал, LQ – верхняя граница нижнего квартиля, UQ – нижняя граница верхнего квартиля. Критическим уровнем значимости при проверке статистических гипотез был принят $p < 0{,}05$.

Результаты исследования. У контрольных животных масса тела была равна 231 (226; 239) г, температура тела – 37,7 (37,6; 38,1) ºС, относительная масса надпочечников, тимуса и селезенки – 0,18 (0,17; 0,20); 2,17 (2,01; 2,28) и 4,03 (3,92; 4,24) мг/г соответственно.

Концентрация кортикостероидов в крови составила 21,37 (19,18; 24,26) нмоль/л, инсулина – 1,30 (1,19; 1,44) мкМЕ/мл (табл. 1), T_3 – 1,60 (1,44; 1,71) нмоль/л, T_4 – 49,08 (43,08; 51,68) нмоль/л, $T_{3св}$ – 3,24 (3,04; 3,45) пмоль/л, $T_{4св}$ – 12,46 (11,75; 13,21) пмоль/л, ТТГ – 0,17 (0,13; 0,18) мкМЕ/мл (табл. 2).

Время удерживания крыс на вращающемся валике ротарода, характеризующее их физическую выносливость, составило 8,5 (5,0; 9,0) с.

Т а б л и ц а 1. **Влияние стресса «дефицита времени» на температуру тела крыс, относительную массу надпочечников, тимуса и селезенки, концентрацию кортикостероидов и инсулина в крови, величину К/И**

T a b l e 1. **Influence of the stress of "deficiency of time" on the body temperature of rats, a relative mass of adrenal glands, thymus and spleen, the concentration of corticosteroids and insulin in the blood, the value of corticosteroid/insulin coefficient**

Показатель	Контроль	Стресс
Температура тела, ºС	37,7 (37,6; 38,1)	37,9 (37,5; 38,0)
Относительная масса надпочечников, мг/г	0,18 (0,17; 0,20)	0,23 (0,22; 0,25) $p > 0,01$
Относительная масса тимуса, мг/г	2,17 (2,01; 2,28)	1,60 (1,34; 1,81) $p < 0,01$
Относительная масса селезенки, мг/г	4,03 (3,92; 4,24)	3,49 (3,32; 3,74) $p < 0,01$
Концентрация кортикостероидов в крови, нмоль/л	21,37 (19,18; 24,26)	30,49 (29,15; 31,3) $p < 0,01$
Концентрация инсулина в крови, мкМЕ/мл	1,30 (1,19; 1,44)	1,06 (1,02; 1,06) $p < 0,01$
К/И	1	1,82 $p < 0,01$

П р и м е ч а н и е. Здесь и в табл. 2, 3: p – достоверность различий.

Т а б л и ц а 2. **Влияние стресса «дефицита времени» на сывороточный уровень йодсодержащих тиреоидных и тиреотропного гормонов**

T a b l e 2. **Influence of the stress of "deficiency of time" on serum levels of iodine-containing thyroid and thyroid-stimulating hormones**

Показатель	Контроль	Стресс
$T_{3,}$ нмоль/л	1,60 (1,44; 1,71)	1,88 (1,84; 2,23) $p < 0,01$
$T_{4,}$ нмоль/л	49,08 (43,08; 51,68)	60,06 (59,14; 63,31) $p < 0,01$
$T_{3св}$, пмоль/л	3,24 (3,04; 3,45)	4,21 (4,12; 4,31) $p < 0,01$
$T_{4св}$, пмоль/л	12,46 (11,75; 13,21)	16,40 (15,79; 18,94) $p < 0,01$
ТТГ, мкМЕ/Мл	0,17 (0,13; 0,18)	0,11 (0,09; 0,12) $p < 0,05$

Параметры, отражающие горизонтальную двигательную активность животных в тесте «открытое поле»: общая дистанция перемещения – 14,18 (12,66; 16,12) м, из них в периферической зоне – 81,30 (73,19; 86,07) %, в центральной – 18,71 (13,93; 26,81) %, максимальная скорость перемещения – 57,62 (45,44; 90,27) см/с. Количество стоек, сделанных крысами за время теста, – 11,5 (9,0; 14,0).

Параметры, характеризующие исследовательскую активность животных: соотношение продолжительности пребывания в периферической и центральной зонах – 85,89 (78,97; 93,25) и 14,11 (6,75; 21,03) % соответственно, общая длительность замирания – 43,63 (35,70; 49,29) %, из них в периферической зоне – 38,60 (34,67; 49,19) %, в центральной – 1,86 (1,03; 8,28) %. Число входов в центр составило 12,5 (9,0; 18,0), латентный период входа в него – 9,81 (4,85; 11,48) с. Параллельный индекс составил –0,16 (–0,34; –0,11) (табл. 3).

У животных, подвергнутых СДВ, относительная масса надпочечников была увеличена на 31 % ($p < 0,01$), а тимуса и селезенки – снижена на 26 и 14 % соответственно ($p < 0,01$).

Т а б л и ц а 3. **Влияние стресса «дефицита времени» на физическую выносливость, двигательную и исследовательскую активность животных**

T a b l e 3. **The effect of the stress of "deficiency of time" on the physical endurance, motor and research activity of animals**

Показатель	Контроль	Стресс
Время удержания на вращающемся валике ротарода, с	8,5 (5,0; 9,0)	11,5 (10,0; 14,0) $p < 0,01$
Дистанция:		
общая, м	14,18 (12,66; 16,12)	18,27 (17,57; 19,53) $p < 0,01$
в периферической зоне, %	81,30 (73,19; 86,07)	82,11 (72,66; 83,52)
в центральной зоне, %	18,71 (13,93; 26,81)	17,90 (16,48; 27,34)
Максимальная скорость перемещения, см/с	57,62 (45,44; 90,27)	95,22 (85,71; 111,10) $0,05 < p < 0,1$
Количество вертикальных стоек	11,5 (9,0; 14,0)	6,5 (5,0; 8,0) $p < 0,05$
Продолжительность пребывания, %:		
в периферической зоне	85,89 (78,97; 93,25)	88,43 (79,79; 92,21)
в центральной зоне	14,11 (6,75; 21,03)	11,57 (7,79; 20,21)
Длительность замирания, %:		
общая	43,63 (35,70; 49,29)	64,93 (61,75;70,84) $p < 0,05$
в периферической зоне	38,60 (34,67; 49,19)	63,81 (61,09; 67,49) $p < 0,01$
в центральной зоне	1,86 (1,03; 8,28)	1,22 (1,00; 3,35)
Число входов в центральную зону	12,5 (9,0; 18,0)	7,5 (5,0; 12,0) $0,05 < p < 0,1$
Латентный период входа в центральную зону, с	9,81 (4,85; 11,48)	14,55 (11,55; 19,35) $p < 0,05$
Параллельный индекс	–0,16 (–0,34; –0,11)	0,03 (–0,03; 0,06) $p < 0,05$

С повышением относительной массы надпочечников отмечалось, соответственно, и возрастание уровня кортикостероидов в крови – на 43 % ($p < 0,01$). Сывороточная концентрация инсулина, напротив, падала на 19 % ($p < 0,01$). Вследствие указанных изменений уровней кортикостероидов и инсулина в крови их соотношение (К/И коэффициент) значительно возрастало – в 1,82 раза.

У 80 % животных, перенесших СДВ, наблюдались поражение СОЖ: с тяжестью 1 балл – у 20 % крыс, 2 или 3 балла – у оставшихся 60 % (соотношение 1:1); множественность поражения: 2 кровоизлияния на животное – у 30 %, 3 – у 40, 4 – у 10 % крыс. Индекс поражения, являющийся интегральным показателем поражения СОЖ, возрастал в 16 раз – от 0,3 до 4,7.

Физическая выносливость животных увеличивалась: время их удержания на барабане ротарода повышалось на 35 % ($p < 0,01$). Горизонтальная двигательная активность крыс в тесте «открытое поле» также возрастала: общая дистанция перемещения животных увеличивалась на 29 % ($p < 0,01$). Однако их вертикальная двигательная активность уменьшалась: количество стоек снижалось на 43 % ($p < 0,05$). При этом показатели как соотношения дистанции перемещения крыс на периферии и в центре, так и продолжительности их пребывания в этих зонах не изменялись ($p > 0,05$). Максимальная скорость перемещения животных имела тенденцию к увеличению ($0,05 < p < 0,1$).

Исследовательская активность крыс падала: число входов в центр имело тенденцию к снижению ($0,05 < p < 0,1$), а латентный период входа в эту зону, напротив, увеличивался на 48 % ($p < 0,05$). Общая длительность замирания также повышалась – на 49 % ($p < 0,05$) за счет возрастания времени неподвижности в периферической зоне на 65 % ($p < 0,01$). Параллельный индекс

стал положительным и составил 0,03, вследствие чего был больше, чем в контроле, на 0,19 ($p < 0,05$). Обнаруженные изменения свидетельствуют, с одной стороны, об увеличении физической выносливости и горизонтальной локомоторной активности крыс, с другой, о снижении их вертикальной двигательной активности и исследовательского поведения.

СДВ вызвал повышение концентрации ЙТГ в крови крыс, особенно их свободных фракций: T_3 – на 18 % ($p < 0,01$), T_4 – на 22 % ($p < 0,01$), $T_{3св}$ – на 30 % ($p < 0,01$), $T_{4св}$ – на 32 % ($p < 0,01$). В ответ на это сывороточный уровень ТТГ снижался на 36 % ($p < 0,05$), что свидетельствует о сохранении нормальных регуляторных отношений в системе гипофиз–щитовидная железа.

Учитывая, что на содержание ЙТГ в крови может оказывать влияние и температура тела животных, нами контролировался и уровень последней. Оказалось, что через 1 ч после СДВ температура тела крыс не отличалась от ее значения в контрольной группе животных (см. табл. 1). Следовательно, обнаруженные нами изменения сывороточного уровня ЙТГ и ТТГ были вызваны самим стрессорным воздействием.

Обсуждение. Ситуация, когда животное стремится избежать контакта с водой, быстро заполняющей устройство, и никак не может повлиять своими действиями на обстановку, в которой оказалось, вызывает появление классической триады стресса – увеличение относительной массы надпочечников, тимико-лимфатическую инволюцию и повреждение СОЖ, а также сдвиги уровней кортикостероидов и инсулина в крови, что свидетельствует о развитии стресс-реакции и позволяет отнести примененное нами воздействие к стрессирующему фактору. Горизонтальная двигательная активность и физическая выносливость животных в этих условиях повышались, а их вертикальная локомоторная активность и исследовательское поведение, напротив, снижались. Выбранная нами модель стресса приводила к активации тиреоидной функции и падению содержания ТТГ в крови (за счет срабатывания короткой петли обратной связи в гипоталамо-гипофизарно-тиреоидной системе).

Стимуляция тиреоидной функции при кратковременных стрессах установлена и другими авторами. Так, при болевом воздействии (однократное ноцицептивное воздействие, не повреждающее кожные покровы и нижележащие ткани, на бедренно-поясничную область тела крыс) содержание T_4 и T_3 в крови повышалось в 2,5 и 2 раза [7], что было связано со стимуляцией секреции ТТГ. Нами обнаружено также снижение сывороточной концентрации ТТГ. Данный сдвиг может быть обусловлен как мобилизацией короткой петли обратной связи в гипофизарно-тиреоидной системе, так и повышением секреции адренокортикотропного гормона (АКТГ) в условиях стресса [8], приводящим к реципрокному угнетению синтеза ТТГ передней долей гипофиза [9].

Обнаруженные сдвиги относительной массы стресс-сенситивных органов могут быть связаны: 1) гипертрофия надпочечников – с повышенной секрецией АКТГ, вызывающей увеличение запасов холестерина, аскорбиновой и пантотеновой кислот в коре надпочечников и стимуляцию синтеза кортикостероидов [10]; 2) снижение относительной массы надпочечников и селезенки – со стресс-индуцированной тимико-лимфатической атрофией (гибелью незрелых клеток за счет апоптоза или их миграцией и выходом в циркуляцию, при этом часть таких клеток, возможно, обретает новые функции, например стволовых клеток [11]).

Снижение сывороточной концентрации инсулина, вероятно, обусловлено ингибированием его секреции β-клетками островков Лангерганса поджелудочной железы под влиянием катехоламинов [12], вырабатывающихся в повышенных количествах при стрессе [13].

Выявленное нами повреждение СОЖ может быть обусловлено: 1) увеличением синтеза кортикостероидов при стрессе, которые повышают желудочную секрецию, преобразуют состав слизи, увеличивают образование соляной кислоты, нарушают процессы восстановления тканей и микроциркуляцию [14]; 2) активацией протеолиза [15]; 3) стимуляцией перекисного окисления липидов [16] в этих условиях.

Повышение физической выносливости и горизонтальной двигательной активности при СДВ, вероятно, определяется стимуляцией выброса катехоламинов и глюкокортикоидов в кровь, определяющих повышение энергетического обеспечения сократительного акта в результате активации распада гликогена в печени с образованием глюкозы [17], усиления аэробного и анаэробного

окисления гликогена мышц, обеспечивающего выработку большого количества аденозинтрифосфата [18], повышения скорости тканевого дыхания в митохондриях [19], мобилизации жира из жировых депо [20], увеличения скорости β-окисления жирных кислот и образования кетоновых тел [21], включения аминокислот в глюконеогенез [22].

Снижение вертикальной двигательной активности, вероятно, отражает ингибирование дофаминергических систем головного мозга, от уровня активности которых она напрямую зависит [23].

Заключение. Использование предложенной нами модели эмоционального стресса, обеспечивающей индивидуальное тестирование животных, эффективное очищение экспериментальной установки от продуктов их жизнедеятельности, исключающей травмирование животных, позволит объективизировать исследование механизмов развития стрессорной альцерации для разработки новых способов ограничения негативных последствий стресса.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Благодарности. Исследование выполнено в рамках задания темы ГПНИ Республики Беларусь на 2019–2020 гг. «Изучить возможность повышения устойчивости организма к стрессу за счет стимуляции центрального отдела антистресс-системы и снижения активности стресс-реализующей системы путем целенаправленной коррекции тиреоидного статуса (экспериментальное исследование)».

Acknowledgements. The study was performed as part of the assignment of the topic of the State Research Program of Belarus for 2019–2020 “Examine the possibility of increasing the body’s resistance to stress by stimulating the central section of the antistress system and reducing the activity of the stress-implementing system through targeted correction of thyroid status (experimental study)”.

Список использованных источников

1. Состояние здоровья и образ жизни студентов-медиков / Л. Н. Коданева [и др.] // Междунар. науч.-исслед. журн. – 2016. – Т. 54, № 12, ч. 4. – С. 45–47.

2 Устройство для моделирования эмоционального стресса у экспериментального животного : пат. 11571 Респ. Беларусь, МПК A 61B 5/16, G 09B 23/28 / И. В. Городецкая, Е. А. Гусакова ; заявитель Вит. гос. мед. ун-т. – № u 20171230 ; заявл. 08.06.2017 ; опубл. 30.12.17 // Афіц. бюл. / Нац. цэнтр інтэлектуал. уласнасці. – 2017. – № 6. – С. 118–119.

3. Селье, Г. Очерки об адаптационном синдроме / Г. Селье ; пер. с англ. В. И. Кандрора, А. А. Рогова. – М. : Медгиз, 1960. – 254 с.

4. Экспериментальная модель пептической язвы желудка / А. И. Воложин [и др.] // Патол. физиология и эксперим. терапия. – 2001. – № 4. – С. 27–28.

5. Виноградов, В. А. Влияние нейропептидов на экспериментальную дуоденальную язву у крыс / В. А. Виноградов, В. М. Полонский // Патол. физиология и эксперим. терапия. – 1983. – № 1. – С. 3–7.

6. Панин, Л. Е. Биохимические механизмы стресса / Л. Е. Панин. – Новосибирск : Наука, Сиб. отд-ние, 1983. – 233 с.

7. Белякова, Е. И. Реакция гипоталамо-гипофизарно-тиреоидной системы на острое и пролонгированное стресс-воздействие / Е. И. Белякова // Успехи соврем. естествознания. – 2004. – № 8. – С. 33–34.

8. Sensitization of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in a male rat chronic stress model / A. J. Franco [et al.] // Endocrinology. – 2016. – Vol. 157, N 6. – P. 2346–2355. https://doi.org/10.1210/en.2015-1641

9. Isolated adrenocorticotropic hormone (ACTH) deficiency and thyroid-stimulating hormone (TSH)-thyroid hormone derangement: report of three cases / Y. Shigemitsu [et al.] // J. Saitama Med. School. – 2004. – Vol. 31. – P. 115–120.

10. Effect of acute heat stress on adrenocorticotropic hormone, cortisol, interleukin-2, interleukin-12 and apoptosis gene expression in rats / L. Wang [et al.] // Biomed Rep. – 2015. – Vol. 3, N 3. – P. 425–429. https://doi.org/10.3892/br.2015.445

11. Старская, И. С. Морфологические аспекты атрофии тимуса при стрессе / И. С. Старская, А. В. Полевщиков // Иммунология. – 2013. – № 5. – С. 271–277.

12. Glucose metabolism and catecholamines / E. Barth [et al.] // Crit. Care Med. – 2007. – Vol. 35, Suppl. 9. – P. S508–S518. https://doi.org/10.1097/01.CCM.0000278047.06965.20

13. Прохоренко, И. О. Гормоны стресса. Психофизиологические корреляции у пациентов старших возрастных групп // Соврем. проблемы науки и образования. – 2013. – № 2. – С. 1–8.

14. Никольский, В. И. Этиология и патогенез острых гастродуоденальных изъязвлений, осложненных кровотечением / В. И. Никольский, К. И. Сергацкий // Вестн. хирург. гастроэнтерологии. – 2009. – № 4. – С. 53–63.

15. Mechanisms of disease: protease functions in intestinal mucosal pathobiology / T. M. Antalis [et al.] // Nat. Clin. Pract. Gastroenterol. Hepatol. – 2007. – Vol. 4, N 7. – P. 393–402. https://doi.org/10.1038/ncpgasthep0846

16. Lipid peroxidation, reactive oxygen species and antioxidative factors in the pathogenesis of gastric mucosal lesions and mechanism of protection against oxidative stress – induced gastric injury / S. Kwiecien [et al.] // J. Physiol. Pharmacol. – 2014. – Vol. 65, N 5. – P. 613–622.

17. Regulation of glucose homeostasis by glucocorticoids / T. Kuo [et al.] // Glucocorticoid Signaling. Advances in Experimental Medicine and Biology / ed. : J. C. Wang, C. Harris. – New York, 2015. – Vol. 872. – P. 99–126.

18. The influence of glucocorticoids and catecholamines on the neuromuscular transmission / S. N. Grishin [et al.] // Biochemistry (Moscow), Suppl. Ser. A: Membrane Cell Biol. – 2017. – Vol. 11, N 4. – P. 253–260. https://doi.org/10.1134/s1990747817040043

19. Effects of corticosterone on muscle mitochondria identifying different sensitivity to glucocorticoids in Lewis and Fischer rats / M. Duclos [et al.] // AJP Endocrinol. Metab. – 2004. – Vol. 286, N 2. – P. E159–E167. https://doi.org/10.1152/ajpendo.00281.2003

20. Direct effect of glucocorticoids on lipolysis in adipocytes / C. Xu [et al.] // Mol. Endocrinol. – Vol. 23, N 8. – P. 1161–1170. https://doi.org/10.1210/me.2008-0464

21. Regulation of ketone body metabolism and the role of PPARα / M. Grabacka [et al.] // Int. J. Mol. Sci. – 2016. – Vol. 17, N 12. – P. 2093. https://doi.org/10.3390/ijms17122093

22. Михайлов, С. С. Биохимия двигательной деятельности / С. С. Михайлов. – М. : Спорт, 2018. – 298 с.

23. D1 Dopamine receptor coupling to PLCβ regulates forward locomotion in mice / I. O. Medvedev [et al.] // J. Neurosci. – 2013. – Vol. 33, N 46. – P. 18125–18133. https://doi.org/10.1523/jneurosci.2382-13.2013

References

1. Kodaneva L. N., Shulyat'ev V. M., Razmakhova S. Yu., Pushkina V. N. Health status and lifestyle of medical students. *Mezhdunarodnyi nauchno-issledovatel'skii zhurnal = International Research Journal*, 2016, vol. 54, no. 12, pt. 4, pp. 45–47 (in Russian).

2. Gorodetskaya I. V., Gusakova E. A., *Device for modeling emotional stress in an experimental animal*. Patent BY, no. 11571, 2017 (in Russian).

3. Selye H. The Story of the adaption syndrome. Montreal, Medical Publishers, 1952. 225 p. (Russ. ed.: Sel'e G. *Essays on adaptation syndrome*. Moscow, Medgiz Publ., 1960. 254 p.).

4. Volozhin A. I., Tarasenko L. M., Neporada K. S., Skrypnik I. N. Experimental model of peptic ulcers of the stomach. *Patologicheskaya fiziologiya i eksperimental'naya terapiya = Pathological physiology and experimental therapy*, 2001, no. 4, pp. 27–28 (in Russian).

5. Vinogradov V. A., Polonskii V. M. The effect of neuropeptides on experimental duodenal ulcer in rats. *Patologicheskaya fiziologiya i eksperimental'naya terapiya = Pathological physiology and experimental therapy*, 1983, no. 1, pp. 3–7 (in Russian).

6. Panin L. E. *Biochemical mechanisms of stress*. Novosibirsk, Nauka (Sibirskoe otdelenie) Publ., 1983. 233 p. (in Russian).

7. Belyakova E. I. Reaction of the hypothalamic-pituitary-thyroid system to an acute and prolonged stress effect. *Uspekhi sovremennogo estestvoznaniya = Advances in current natural sciences*, 2004, no. 8, pp. 33–34 (in Russian).

8. Franco A. J., Chen C., Scullen T., Zsombok A., Salahudeen A. A., Di S., Herman J. P., Tasker J. G. Sensitization of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in a male rat chronic stress model. *Endocrinology*, 2016, vol. 157, no. 6, pp. 2346–2355. https://doi.org/10.1210/en.2015-1641

9. Shigemitsu Y., Wada S., Suzuki M., Minagawa A., Kitahama S., Iitaka M., Katayama S. Isolated adrenocorticotropic hormone (ACTH) deficiency and thyroid-stimulating hormone (TSH)-thyroid hormone derangement: report of three cases. *Journal of Saitama Medical School*, 2004, vol. 31, pp. 115–120.

10. Wang L., Liu F., Luo Y., Zhu L., Li G. Effect of acute heat stress on adrenocorticotropic hormone, cortisol, interleukin-2, interleukin-12 and apoptosis gene expression in rats. *Biomedical Reports*, 2015, vol. 3, no. 3, pp. 425–429. https://doi.org/10.3892/br.2015.445

11. Starskaya I. S., Polevshchikov A. V. Morphological aspects of thymus atrophy under stress. *Immunologiya = Immunology*, 2013, no. 5, pp. 271–277 (in Russian).

12. Barth E., Albuszies G., Baumgart K., Matejovic M., Wachter U., Vogt J., Radermacher P., Calzia E. Glucose metabolism and catecholamines. *Critical Care Medicine*, 2007, vol. 35, suppl. 9, pp. S508–S518. https://doi.org/10.1097/01.CCM.0000278047.06965.20

13. Prokhorenko I. O. Stress hormones. Psychophysiological correlationsat patients of senior age groups. *Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya = Modern problems of science and education*, 2013, no. 2, pp. 1–8 (in Russian).

14. Nikol'skii V. I., Sergatskii K. I. Etiology and pathogenesis of acute gastroduodenal ulcerations complicated by bleeding. *Vestnik khirurgicheskoi gastroenterologii = Herald of surgical gastroenterology*, 2009, no. 4, pp. 53–63 (in Russian).

15. Antalis T. M., Shea-Donohue T., Vogel S. N., Sears C., Fasano A. Mechanisms of disease: protease functions in intestinal mucosal pathobiology. *Nature Clinical Practice Gastroenterology and Hepatology*, 2007, vol. 4, no. 7, pp. 393–402. https://doi.org/10.1038/ncpgasthep0846

16. Kwiecien S., Jasnos K., Magierowski M., Sliwowski Z., Pajdo R., Brzozowski B., Mach T., Wojcik D., Brzozowski T. Lipid peroxidation, reactive oxygen species and antioxidative factors in the pathogenesis of gastric mucosal lesions and mechanism of protection against oxidative stress – induced gastric injury. *Journal of Physiology and Pharmacology*, 2014, vol. 65, no. 5, pp. 613–622.

17. Kuo T., McQueen A., Chen T.-C., Wang J.-C. Regulation of glucose homeostasis by glucocorticoids. *Glucocorticoid Signaling. Advances in Experimental Medicine and Biology.* New York, 2015, vol. 872, pp. 99–126.

18. Grishin S. N., Gabdrakhmanov A. I., Khairullin A. E., Ziganshin A. U. The influence of glucocorticoids and catecholamines on the neuromuscular transmission. *Biochemistry (Moscow), Supplement Series A: Membrane and Cell Biology*, 2017, vol. 11, no. 4, pp. 253–260. https://doi.org/10.1134/s1990747817040043

19. Duclos M., Gouarne C., Martin C, Rocher C., Mormède P, Letellier T. Effects of corticosterone on muscle mitochondria identifying different sensitivity to glucocorticoids in Lewis and Fischer rats. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, 2004, vol. 286, no. 2, pp. E159–E167. https://doi.org/10.1152/ajpendo.00281.2003

20. Xu C., He J., Jiang H., Zu L., Zhai W., Pu S., Xu G. Direct effect of glucocorticoids on lipolysis in adipocytes. *Molecular Endocrinology*, 2009, vol. 23, no. 8, pp. 1161–1170. https://doi.org/10.1210/me.2008-0464

21. Grabacka M., Pierzchalska M., Dean M., Reiss K. Regulation of ketone body metabolism and the role of PPARα. *International Journal of Molecular Sciences*, 2016, vol. 17, no. 12, p. 2093. https://doi.org/10.3390/ijms17122093

22. Mikhailov S. S. *Biochemistry of motor activity*. Moscow, Sport Publ., 2018. 298 p. (in Russian).

23. Medvedev I. O., Ramsey A. J., Masoud S. T., Bermejo M. K., Urs N., Sotnikova T. D., Beaulieu J.-M., Gainetdinov R. R., Salahpour A. D1 dopamine receptor coupling to PLCβ regulates forward locomotion in mice. *Journal of Neuroscience*, 2013, vol. 33, no. 46, pp. 18125–18133. https://doi.org/10.1523/jneurosci.2382-13.2013

Информация об авторах

Гусакова Елена Анатольевна – канд. биол. наук, доцент. Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет (пр. Фрунзе, 27, 210023, г. Витебск, Республика Беларусь). E-mail: elena-gusakova83@mail.ru

Городецкая Ирина Владимировна – д-р мед. наук, профессор, декан факультета. Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет (пр. Фрунзе, 27, 210023, г. Витебск, Республика Беларусь). E-mail: gorodecka-iv@mail.ru

Information about the authors

Elena A. Gusakova – Ph. D. (Biol.), Assistant Professor. Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University (27, Frunze Ave., 210023, Vitebsk, Republic of Belarus). E-mail: elena-gusakova83@mail.ru

Irina V. Gorodetskaya – D. Sc. (Med.), Professor, Dean of the Faculty. Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University (27, Frunze Ave., 210023, Vitebsk, Republic of Belarus). E-mail: gorodecka-iv@mail.ru

ISSN 1814-6023 (Print)
ISSN 2524-2350 (Online)

УДК 616.329/.33-006.6:616-089.844(476)
https://doi.org/10.29235/1814-6023-2019-16-3-307-316

Поступила в редакцию 01.04.2019
Received 01.04.2019

И. А. Ильин

Республиканский научно-практический центр онкологии и медицинской радиологии им. Н. Н. Александрова, Минск, Республика Беларусь

ЭЗОФАГОКОЛОПЛАСТИКА С ПЛАНИРОВАНИЕМ ПРИ ХИРУРГИЧЕСКОМ ЛЕЧЕНИИ КАРЦИНОМ ПИЩЕВОДА И ПИЩЕВОДНО-ЖЕЛУДОЧНОГО ПЕРЕХОДА

Аннотация. Оценена эффективность метода планирования толстокишечной пластики пищевода при хирургическом лечении карцином пищевода и пищеводно-желудочного перехода.

Эзофагоколопластика при нетрансплантабельном желудке выполнена 109 пациентам, из них 72 (66,1 %), страдающим карциномами пищевода, и 37 (33,9 %) с пищеводно-желудочным переходом. При этом у 40,4 % (44/109) пациентов был применен метод планирования (селективная ангиография и пробное пережатие сосудов). Эффективность метода оценивали путем определения влияния на относительные риски смерти от респираторных осложнений (аспирационные пневмонии и респираторный дистресс-синдром взрослых) и от других причин.

Общая частота послеоперационных осложнений составила 66,8 % (73/109). Некроз трансплантата был диагностирован у 7,3 % (8/109) пациентов, несостоятельность пищеводного анастомоза без некроза – у 5,5 % (6/109), пневмония – у 14,7 % (16/109), легочно-сердечная недостаточность – у 5,5 % (6/109), тромбоэмболия легочной артерии – у 0,9 % (1/109). Использование метода планирования позволило снизить риск смерти от респираторных осложнений и от других причин (ОР 0,46 [95 % ДИ 0,24–0,89], p_{Cox} = 0,021 и ОР 0,52 [95 % ДИ 0,29–0,95], p_{Cox} = 0,034 соответственно).

Метод планирования эзофагоколопластики позволяет выбрать наиболее подходящий толстокишечный сегмент, заранее спланировать уровни пересечения питающих сосудов и сформировать трансплантат путем субтотальной мобилизации толстой кишки. Неблагоприятными факторами в отношении риска смерти от респираторных осложнений и от других причин являются факт развития некроза трансплантата, наличие длительно существующего шейного свища в условиях раневой инфекции, наличие рефлюкса желчи, III и IV стадии злокачественной опухоли.

Ключевые слова: ангиография, мезентерикография, толстокишечная пластика пищевода, карцинома пищевода, карцинома пищеводно-желудочного перехода, хирургический метод лечения, респираторные осложнения, аспирационная пневмония

Для цитирования: Ильин, И. А. Эзофагоколопластика с планированием при хирургическом лечении карцином пищевода и пищеводно-желудочного перехода / И. А. Ильин // Вес. Нац. акад. навук Беларусі. Сер. мед. навук. – 2019. – Т. 16, № 3. – С. 307–316. https://doi.org/10.29235/1814-6023-2019-16-3-307-316

I. A. Ilyin

N. N. Alexandrov National Cancer Centre, Minsk, Republic of Belarus

COLONIC ESOPHAGOPLASTY WITH PLANNING IN ESOPHAGEAL AND GASTROESOPHAGEAL JUNCTION CARCINOMAS SURGICAL TREATMENT

Abstract. The effectiveness of the colonic esophagoplasty planning method for surgical treatment of esophageal and gastroesophageal junction carcinomas is evaluated by analyzing factors that affect the mortality risk from respiratory complications and other causes.

Colonic esophagoplasty in cases of non-transplanted stomach was performed in 109 patients with esophageal carcinomas – 66.1 % (72/109) and gastroesophageal junction carcinomas – 33.9 % (37/109). Esophagoplasty was performed using the planning method (selective angiography and trial clamping of vessels) which was applied in 40.4 % (44/109) patients. The method effectiveness was evaluated by determining the effect of mortality risks (hazard ratio – HR) from respiratory complications (aspiration pneumonia and adult respiratory distress syndrome) and other causes.

Postoperative morbidity was determined in 66.8 % (73/109) observations. Graft necrosis was diagnosed in 7.3 % patients (8/109), esophageal anastomosis leakage without graft necrosis – in 5.5 % patients (6/109), pneumonia – 14.7 % patients (16/109) patients, pulmonary and heart failure – in 5.5 % patients (6/109), pulmonary artery thromboembolism – in 0.9 % patients (1/109). The use of the planning method reduced the mortality risk from respiratory complications and from other causes (HR 0.46 [95 % CI 0.24–0.89], p_{Cox} = 0.021 and HR 0.52 [95 % CI 0.29–0.95], p_{Cox} = 0.034, respectively).

© Ильин И. А., 2019

The planning method allows selecting the most suitable colonic segment, planning in advance the levels of feeding vessels intersection and forming a graft by subtotal colon mobilization. Adverse factors in relation to the mortality risk from respiratory complications and from other causes are the fact of graft necrosis development, the presence of long-existing cervical fistula in conditions of wound infection and the presence of bile reflux, stage III and IV of malignant tumors.

Keywords: angiography, mesentericography, colonic esophagoplasty, esophageal carcinoma, gastroesophageal junction carcinoma, surgical treatment, respiratory complications, aspiration pneumonia

For citation: Ilyin I. A. Colonic esophagoplasty with planning in esophageal and gastroesophageal junction carcinomas surgical treatment. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seriya meditsinskikh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2019, vol. 16, no. 3, pp. 307–316 (in Russian). https://doi.org/10.29235/1814-6023-2019-16-3-307-316

Введение. Для восстановления непрерывности пищеварительного тракта при хирургическом лечении карцином пищевода и пищеводно-желудочного перехода в условиях нетрансплантабельности желудка (резекция, гастрэктомия и др.) используются нежелудочные трансплантаты, из которых выкраивается сегмент необходимой длины. Как правило, тонкая кишка является непригодной для перемещения на шею, так как при этом требуется пересечение до четырех тонкокишечных артерий, а наличие коротких мезентериальных аркад препятствует выпрямлению тонкокишечного графта, ограничивая его по длине [1]. При этом остается открытым вопрос повышения эффективности пластики пищевода в условиях дефицита пластического материала. Особенно актуальное значение данная проблема приобретает для пациентов, перенесших хирургические операции резекционного характера на полых органах брюшной полости, когда в последующем затруднена визуализация питающих толстую кишку сосудов. В таких случаях необходима персонализированная тактика, направленная на индивидуальное планирование оптимального варианта эзофагоколопластики в существующих анатомических условиях.

В литературе представлено немало работ, демонстрирующих преимущества методик сосудистого усиления, направленных на обеспечение эффективного кровообращения в сформированном кишечном сегменте, с целью профилактики некроза трансплантата и/или несостоятельности анастомоза ишемического генеза [2–8]. Однако такая сложная процедура должна осуществляться по показаниям, а не в рутинном режиме, так как проблема ишемических осложнений зависит не только от недостаточного артериального притока, но и от венозного стаза. В связи с этим решение конкретных клинических задач должно быть взвешенным и осуществляться путем синтеза данных, полученных на дооперационном этапе и интраоперационно. Планирование потенциально возможного варианта эзофагопластики возможно путем селективной ангиографии (мезентерикографии) с визуализацией ветвей брыжеечных артерий и их вариативных особенностей, что дает возможность заранее определить наиболее подходящий кишечный сегмент и спланировать уровни пересечения питающих сосудов при формировании трансплантата.

Цель исследования – оценить эффективность метода планирования толстокишечной пластики пищевода при хирургическом лечении карцином пищевода и пищеводно-желудочного перехода путем анализа факторов, влияющих на риски смерти от респираторных осложнений и от иных причин.

Материалы и методы исследования. Толстокишечная пластика пищевода выполнена 109 пациентам, из них 72 (66,1 %), страдающим карциномами пищевода, и 37 (33,9 %) с карциномами пищеводно-желудочного перехода. У пациентов, нуждавшихся в пластике пищевода толстой кишкой, применяли метод планирования толстокишечной эзофагопластики [9], включавшей дооперационный (селективная ангиография – верхняя и нижняя мезентерикография) и интраоперационный этапы (пробное пережатие питающих сосудов на основании данных, полученных при ангиографии). Эзофагоколопластика с применением метода планирования выполнена у 40,4 % (44/109) пациентов. Мезентерикографию выполняли из бедренного доступа с последовательным контрастированием верхней и нижней брыжеечных артерий, а также их ветвей (верхняя и нижняя мезентерикография). При этом вариантную ангиоархитектонику ободочно-кишечных сосудов оценивали с позиций выполнения оптимальной эзофагоколопластики. Показанием к использованию метода планирования являлась необходимость выполнения толстокишечной эзофагопластики пациентам, страдающим карциномами пищевода и пищеводно-желудочного перехода.

Структура злокачественных опухолей в когорте была представлена плоскоклеточным раком пищевода и аденокарциномой пищеводно-желудочного перехода – 66,1 % (72/109) и 34,0 % (37/109) пациентов соответственно. Лица мужского пола преобладали над пациентами женского пола – 85,3 % (93/109). Средний возраст пациентов составил 57,0 (52,0; 63,0) года, средний индекс массы тела – 20,3 (19,0; 24,6) ед.

По дескриптору pT пациенты распределились следующим образом: pT1 – 9,2 % (10/109), pT2 – 31,2 % (34/109), pT3 – 42,2 % (46/109), pT4 – 17,4 % (19/109); по дескриптору pN: pN0 – 52,3 % (57/109), pN1 – 44,0 % (48/109); pN2 – 2,8 % (3/109); pN3 – 0,9 % (1/109); по стадиям: IV – 3,7 % (4/109), III – 45,0 % (49/109), II – 28,4 % (31/109), I – 21,1 % (23/109), 0 – 1,8 % (2/109).

Причинами использования толстой кишки в качестве трансплантата для замещения удаленного пищевода являлись: рак верхней трети грудного отдела пищевода у 19,3 % (21/109) пациентов, оперированный в анамнезе желудок (непригодный для пластики) – у 11,0 % (12/109), рецидив рака в зоне пищеводно-органного анастомоза после хирургического лечения – у 7,3 % (8/109), повторные и отсроченные реконструкции после ранее перенесенных разобщающих операций – у 62,4 % (68/109).

Технология пересечения питающих сосудов при формировании трансплантата из правого фланга толстой кишки, включающего восходящий отдел и поперечную ободочную кишку, без включения в трансплантат илеоцекального соединения, состояла в следующем. Средние ободочные сосуды пересекались всегда после пробного пережатия, если планировалось формирование толстокишечного трансплантата из правого фланга для перемещения на шею. Если правая ободочная артерия (ПОА) непосредственно отходила от верхней брыжеечной артерии (ВБА) (рис. 1, *a*), то ПОА пересекалась у места отхождения от ВБА.

В случаях, если ПОА отходила от подвздошно-ободочно-кишечной артерии (ПОКА), ее пересекали у места отхождения от ПОКА (рис. 1, *b*). Если имелся общий ствол для ПОА и средней ободочной артерии (СОА), то он пересекался у места отхождения от ВБА (рис. 1, *c*). При удвоенной ПОА (рис. 1, *d*) пересекались обе ветви ПОА. Если ПОА отсутствовала, при формировании трансплантата пересекался краевой сосуд, образованный восходящей ветвью ПОКА и правой ветвью СОА.

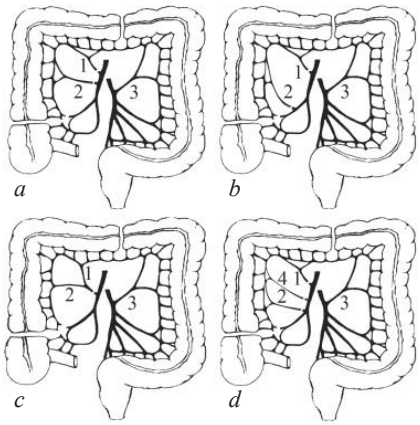


Рис. 1. Схема пересечения питающих сосудов при формировании трансплантата из правого фланга толстой кишки (*a*, *b*, *c*, *d* – варианты формирования трансплантатов в зависимости от уровня пересечения питающих сосудов: *1* – СОА, *2* – ПОА, *3* – ЛОА, *4* – добавочная ПОА)

Fig. 1. Scheme of feeding vessels intersection during the graft formation with the right colon flank (*a*, *b*, *c*, *d* are the variants of grafts formation depending on the level of feeding vessels intersection: *1* – middle colic artery, *2* – right colic artery, *3* – left colic artery, *4* – additional right colic artery)

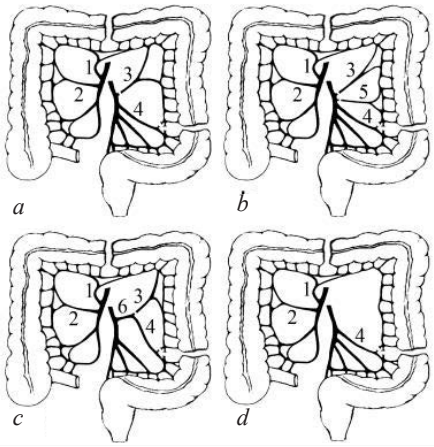


Рис. 2. Схема пересечения питающих сосудов при формировании трансплантата из левого фланга толстой кишки (*a*, *b*, *c*, *d* – варианты формирования трансплантатов в зависимости от уровня пересечения питающих сосудов: *1* – СОА, *2* – ПОА, *3* – ЛОА, *4* – СС, *5* – добавочная ЛОА, *6* – левоободочно-сигмовидно-кишечная артерия)

Fig. 2. Scheme of feeding vessels intersection during the graft formation with the left colon flank (*a*, *b*, *c*, *d* are the variants of grafts formation depending on the level of feeding vessels intersection: *1* – middle colic artery, *2* – right colic artery, *3* – left colic artery, *4* – sigmoid trunk, *5* – additional left colic artery, *6* – left colonic-sigmoid intestinal artery)

В некоторых случаях ПОА и ПОКА могли формироваться из общего короткого ствола, отходящего от ВБА. При этом выкраивание трансплантата сопровождалось пересечением только ПОА.

Формирование трансплантата из левого фланга ободочной кишки осуществлялось путем пересечения левых ободочных сосудов (без включения сигмовидных сосудов) с учетом индивидуальных особенностей: самостоятельное отхождение левой ободочной артерии (ЛОА) от нижней брыжеечной артерии (НБА) (рис. 2, *a*); удвоенная ЛОА (рис. 2, *b*); левообободочно-сигмовидно-кишечный ствол, разделяющийся на ЛОА и сигмовидный ствол (СС) (рис. 2, *c*); отсутствие ЛОА (рис. 2, *d*).

Для учета всех послеоперационных осложнений использовали классификацию Clavien-Dindo [10], согласно которой к осложнениям I–II степени относили инфекционные осложнения со стороны послеоперационной раны, к осложнениям III–IV степени – некроз трансплантата, несостоятельность анастомоза, пневмонию, легочную недостаточность, перитонит, тромбоэмболию легочной артерии, кишечную непроходимость.

Статистика. Нормальность распределения признаков оценивали с применением теста Колмогорова–Смирнова. Признак считали отличающимся от нормального распределения при $p < 0{,}05$. Изучаемые количественные признаки не подчинялись нормальному распределению, и по этой причине количественные параметры в работе были представлены в виде медианы (Me) и квартилей (Q) – Me (Q_{25}; Q_{75}). Факторы прогноза, оказывающие влияние на относительный риск (ОР) смерти от респираторных осложнений (аспирационная пневмония, респираторный дистресс-синдром взрослых), развивающихся от рефлюкса, и ОР смерти от всех причин, определяли с помощью регрессионного анализа по Коксу.

Результаты исследования. Первичная пластика пищевода толстой кишкой выполнена у 39,5 % (43/109) пациентов, повторная (после ранее перенесенных разобщающих операций по поводу осложнений первичной пластики желудком или тонкой кишкой) – у 53 % (42/109), отсроченная пластика – у 22,0 % (24/109). Для загрудинной пластики пищевода изоперистальтическая позиция применена у 71,6 % (78/109) пациентов, антиперистальтическая – у 28,4 % (31/109). При этом трансплантат из правого фланга толстой кишки сформирован у 49,5 % (54/109) пациентов, из левого фланга – у 50,5 % (55/109).

При выполнении оперативных вмешательств применяли следующие доступы: абдоминоцервикальный – у 64,2 % (70/109) пациентов, абдомино-торакальный – у 8,2 % (9/109), торако-абдомино-цервикальный – у 26,6 % (29/109), абдомино-торако-цервикальный – у 0,9 % (1/109).

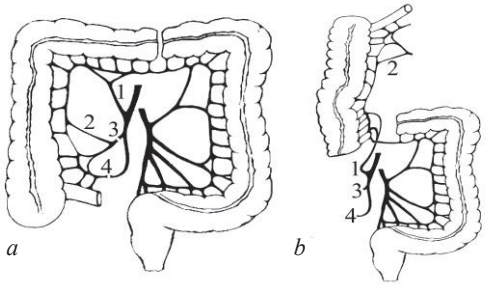


Рис. 3. Схема формирования комбинированного трансплантата из ileocolon (*a*, *b* – формирование трансплантата: *1* – СОА, *2* – ПОА, *3* – уровень пересечения ПОКА, *4* – уровень пересечения анастомотического сосуда между ПОКА и ВБА)

Fig. 3. Scheme of the combined graft formation with the ileocolon (*a*, *b* – graft formation: *1* – middle colic artery, *2* – right colic artery, *3* – ileocolic artery intersection level, *4* – intersection level of anastomotic vessel between the ileocolic artery and the superior mesenteric artery)

Для пластики пищевода правый фланг толстой кишки без включения в трансплантат илеоцекального соединения использовали у 43,1 % (47/109) пациентов, правый фланг с включением илеоцекального соединения и терминального сегмента подвздошной кишки в изоперистальтической позиции (ileocolon пластика, рис. 3) – у 6,4 % (7/109), левый фланг – у 50,5 % (55/109).

При выкраивании толстокишечного трансплантата в изоперистальтической позиции в качестве сосудистой ножки, питающей сформированный кишечный сегмент, чаще использовалась ЛОА – у 56,9 % (62/109) пациентов. Двойное кровоснабжение за счет ЛОА и СОА удалось обеспечить только в 3,7 % (4/109) случаев. При формировании антиперистальтического трансплантата из левого фланга и изоперистальтического комбинированного трансплантата из ileocolon (рис. 3) в роли питающей ножки у 39,4 % (43/109) пациентов выступала СОА.

Для формирования трансплантатов использовали пересечение ПОА у 50,5 % (55/109) пациентов, ПОКА –

у 1,8 % (2/109). Пересечение СОА потребовалось у 62,4 % (68/109) пациентов, ЛОА – у 25,7 % (28/109). Полная перевязка СОА выполнена у 51,4 % (56/109) пациентов, перевязка только правой ветви – у 10,1 % (11/109), перевязка только левой ветви СОА – у 0,9 % (1/109).

Пищеводно-толстокишечный анастомоз формировали преимущественно «конец в конец» у 64,2 % (70/109) пациентов, «конец в бок» – у 33,9 % (37/109), анастомоз трансплантата с глоткой «бок в бок» – у 1,8 % (2/109). Дистальный анастомоз с толстокишечным трансплантатом формировали по типу «конец в бок» на петле с межкишечным соустьем, расположенным дистальнее ранее сформированной еюностомы, – у 29,4 % (32/109) пациентов; на отключенной по Ру петле – у 19,3 % (21/109); с передней стенкой желудка – у 45,9 % (50/109); с передней стенкой верхней горизонтальной ветви двенадцатиперстной кишки – у 5,5 % (6/109).

Васкуляризацию толстокишечного трансплантата, которая потребовалась 27,5 % (30/109) пациентов, осуществляли путем межартериального анастомозирования ободочно-кишечных сосудов трансплантата с внутренними грудными сосудами. Показанием к сосудистому усилению явились диагностированные ангиографически и путем интраоперационной визуальной оценки особенности ангиоархитектоники. Для доступа к внутренним грудным сосудам выполняли резекцию хрящевого сегмента II ребра у 23 % (7/30) пациентов, III – у 53 % (16/30), IV – у 17 % (5/30), V – у 7 % (2/30). Межартериальные и дополнительные дренирующие межвенозные анастомозы (аутотрансплантации) применены у 5,5 % (6/109), у 22 % (24/109) – только артериальная васкуляризация.

Полное восстановление перорального приема пищи было достигнуто в 94,5 % (103/109) случаев.

Средняя продолжительность пребывания в стационаре составила 27,0 (21,0; 35,0) дня, средняя длительность оперативных вмешательств – 375,0 (325,0; 445,0) мин.

Общая частота послеоперационных осложнений составила 66,8 % (73/109). Осложнения III–IV степени по Clavien-Dindo развились у 44,8 % (49/109) пациентов, I–II степени – у 22,0 % (24/109).

Некроз трансплантата диагностирован у 7,3 % (8/109) пациентов; несостоятельность анастомоза – у 12,8 % (14/109), из которых некроз анастомотического сегмента толстокишечного трансплантата со вторичной несостоятельностью пищеводного анастомоза развился у 7,3 % (8/109) пациентов, изолированная (без некроза) несостоятельность пищеводно-толстокишечного анастомоза – у 5,5 % (6/109). Среди других осложнений наблюдались аспирационная пневмония – у 14,7 % (16/109), легочная недостаточность – у 5,5 % (6/109), перитонит – у 2,7 % (3/109), тромбоэмболия легочной артерии – у 0,9 % (1/109), кишечная непроходимость – у 0,9 % (1/109), инфекция послеоперационной раны – у 22,0 % (24/109).

Средний объем интраоперационной кровопотери – 450,0 (350,0; 600,0) мл. При этом потребность в интраоперационном переливании эритроцитарной массы составила 37,6 % (41/109). Гемостатическая терапия интраоперационно потребовалась 12,8 % (14/109) пациентов. Средний объем перелитых глюкозо-солевых растворов составил 3800,0 (3100,0; 4800,0) мл, средний общий средний объем трансфузии – 5050,0 (3800; 6087,5), интраоперационный диурез – 900,0 (600,0; 1100,0) мл.

Послеоперационная 30-, 60- и 90-дневная летальность составила 7,3 % (8/109), 10,1 % (11/109) и 11,0 % (12/109) соответственно.

Обсуждение. Общая частота послеоперационных осложнений у пациентов всей когорты – 66,8 % (73/109). Анализируемый показатель для онкологических пациентов, по данным V. Reslinger с соавт. [1], составляет 89 %, а по сведениям M. Chirica с соавт. [11], для операций по поводу неонкологической патологии он равен 62 %.

В отдаленные сроки (через 3 мес.) у 9,2 % (10/109) пациентов встречались также поздние рубцовые стриктуры шейного пищеводно-толстокишечного анастомоза. По данным V. Reslinger с соавт. и C. D. Klink с соавт. [1, 12], рубцевание анастомоза встречается у 18,6–32,1 % пациентов, перенесших толстокишечную эзофагопластику.

Послеоперационная летальность после эзофагоколопластики варьируется в широких пределах и может достигать 7–16,7 % [5]. При этом, как правило, авторами приводится показатель

без указания сроков его регистрации от момента выполнения операции, что делает невозможным сопоставление данных, полученных разными хирургическими школами. Анализ собственного материала показал, что послеоперационная 30-, 60- и 90-дневная летальность составила 7,3 % (8/109), 10,1 % (11/109) и 11,0 % (12/109) соответственно. Причинами, вызвавшими летальные исходы пациентов, были двухсторонняя полисегментарная пневмония – у 5,5 % (6/109) пациентов, некроз проксимальных отделов трансплантата с медиастинитом – у 2,8 % (3/109), кровотечение – у 1,8 % (2/109).

Одним из жизнеугрожающих осложнений после эзофагопластики является развитие респираторных осложнений, в частности аспирационных пневмоний (до 32 % случаев) [5]. Рефлюкс желчи как причина развития аспирационной пневмонии, респираторного дистресс-синдрома взрослых, эзофагита оказывает влияние на ОР смерти пациентов. Так, монофакторный анализ данных всей когорты пациентов убедительно демонстрирует, что в послеоперационном периоде аспирационная пневмония, развивающаяся от рефлюкса желчи, повышает риск смерти в 2 раза (ОР 2,09 [95 % ДИ 1,11–3,97], $p_{\text{Cox}} = 0{,}023$). Пневмония от иных причин также влияет на указанный показатель (ОР 1,93 [95 % ДИ 1,03–3,62], $p_{\text{Cox}} = 0{,}040$). Учитывая, что одной из основных причин послеоперационной 30- и 60-дневной летальности была пневмония (54,0 % (6/11)), носившая аспирационный генез, было оценено влияние ряда независимых факторов на ОР смерти от респираторных осложнений и от всех причин после эзофагоколопластики. Для этого была сформирована регрессионная модель пропорциональных рисков Кокса (см. таблицу).

Независимые переменные, оказывающие влияние на послеоперационную летальность от респираторных осложнений и от других причин

Independent variables affecting postoperative mortality from respiratory complications and from other causes

Переменная	Относительный риск (ОР) смерти					
	от респираторных осложнений			от всех причин		
	ОР	95 % ДИ	p_{Cox}	ОР	95 % ДИ	p_{Cox}
Некроз кишки	5,43	2,32–12,71	<0,001	6,64	2,85–15,49	<0,001
Несостоятельность анастомоза	0,68	0,30–1,55	0,357	0,62	0,28–1,35	0,229
Объем мобилизации кишки	0,35	0,18–0,70	0,003	0,48	0,26–0,89	0,020
Тип перевязки ободочных сосудов	0,44	0,22–0,87	0,019	0,44	0,23–0,84	0,013
Изоперистальтическая позиция	0,36	0,14–0,96	0,040	0,75	0,35–1,58	0,447
Наличие гнойного свища	2,66	1,05–6,76	0,039	2,12	0,86–5,21	0,101
Постановка назального зонда	0,47	0,23–0,97	0,042	0,43	0,21–0,86	0,018
Стадия III–IV	1,39	1,02–1,90	0,038	1,36	1,01–1,83	0,044
Метод планирования	0,46	0,24–0,89	0,021	0,52	0,29–0,95	0,034
Антибиотикопрофилактика	0,76	0,36–1,58	0,463	Переменная не вошла в итоговое уравнение расчета риска смерти от всех причин		

Как видно из таблицы, использованный метод планирования толстокишечной эзофагопластики при хирургическом лечении карцином пищевода и пищеводно-желудочного перехода позволяет статистически значимо снизить ОР смерти от респираторных осложнений и от других причин (ОР 0,46 [95 % ДИ 0,24–0,89], $p_{\text{Cox}} = 0{,}021$ и ОР 0,52 [95 % ДИ 0,29–0,95], $p_{\text{Cox}} = 0{,}034$ соответственно).

Важное значение имеет правильный выбор уровня пересечения питающих ободочно-кишечных сосудов (в соответствии с технологией, представленной на рис. 1–3) при формировании трансплантата, что является независимым фактором, снижающим риск смерти от респираторных осложнений и от других причин на 56 % (ОР 0,44 [95 % ДИ 0,22–0,87], $p_{\text{Cox}} = 0{,}019$ и ОР 0,44 [95 % ДИ 0,23–0,84], $p_{\text{Cox}} = 0{,}013$ соответственно) (см. таблицу).

Стадия злокачественной опухоли также оказала значимое влияние на риск смерти от рефлюкса желчи и от других причин (ОР 1,39 [95 % ДИ 1,02–1,90], $p_{\text{Cox}} = 0{,}038$ и ОР 1,36 [95 % ДИ 1,01–1,83], $p_{\text{Cox}} = 0{,}044$ соответственно), так как половина пациентов в когорте была со злокачественными опухолями III–IV стадии.

Специфическими осложнениями пластики пищевода является развитие некроза трансплантата и/или несостоятельности анастомоза. Частота некроза толстокишечного трансплантата после эзофагоколопластики, согласно C. D. Klink с соавт. [12], достигает 9,3 % (4/43), по сведениям V. Reslinger с соавт. [1] – 14,3 % (4/28). В данной работе искомый показатель составил 7,3 % (8/109). Так, в сформированной регрессионной модели факт развития некроза толстокишечного трансплантата в послеоперационном периоде повышает риск смерти от рефлюкса желчи и от других причин (ОР 5,43 [95 % ДИ 2,32–12,71], $p_{Cox} < 0{,}001$ и ОР 6,64 [95 % ДИ 2,85–15,49], $p_{Cox} < 0{,}001$ соответственно). В свою очередь несостоятельность пищеводно-толстокишечного анастомоза на шее не оказывает влияния на риск смерти от рефлюкса желчи и от других причин (ОР 0,68 [95 % ДИ 0,30–1,55], $p_{Cox} = 0{,}357$ и ОР 0,62 [95 % ДИ 0,28–1,35], $p_{Cox} = 0{,}357$ соответственно).

По данным моновариантного анализа, переменная, включающая все случаи развития ишемических осложнений (некроз и несостоятельность), в целом не оказала значимого влияния на риск смерти от всех причин (ОР 1,30 [95 % ДИ 0,75–2,25], $p_{Cox} = 0{,}356$). Это связано с тем, что в настоящее время четко выработана активная тактика лечения указанных осложнений, ранее считавшихся летальными.

У оперированных пациентов частота несостоятельности пищеводно-толстокишечного анастомоза на шее составляла до 50 % от их общего числа [5]. Например, S. Awsakulsutthi с соавт. [2] приводят показатель, равный 35,7 %; C. D. Klink с соавт. [12] – 30,2; V. Reslinger с соавт. [1] – 32; J. Brown с соавт. – 13 и 15,2 % соответственно для левого и правого флангов [13]. Частота зависит от ряда факторов, например от опыта хирурга, количества выполняемых им операций определенного типа. При анализе собственных результатов изучаемый показатель не превышал показатели, представленные в рейтинговых публикациях, и составил 12,8 % (14/109) случаев. Так, несостоятельность анастомоза на шее без некроза лечится консервативно (санация, дренирование). В свою очередь несостоятельность с некрозом в области линии шва анастомоза (более 1/3 окружности анастомоза) лечится или стентированием зоны осложнения с дренированием, или путем пластики местными тканями в сочетании с перемещенными кожно-мышечными лоскутами (пекторальный). Если же речь идет о некрозе трансплантата (тотальном некрозе или некрозе проксимальной 1/3 трансплантата), то единственным вариантом спасения жизни является разобщающая операция в объеме удаления некротизированного трансплантата. При этом сама несостоятельность анастомоза не сопряжена с угрозой для жизни пациента (ОР 0,73 [95 % ДИ 0,37–1,45], $p_{Cox} = 0{,}386$), даже когда произошло нагноение шейной раны (ОР 0,55 [95 % ДИ 0,29–1,04], $p_{Cox} = 0{,}068$), в то время как факт развития протяженного некроза, сформированного для эзофагопластики сегмента толстой кишки, значительно отягощает прогноз в отношении жизни (ОР 4,15 [95 % ДИ 1,93–8,91], $p_{Cox} < 0{,}001$). В случаях ишемического некроза трансплантата, когда развивается легочная недостаточность на фоне пневмонии или тромбоэмболии ветвей легочной артерии, риск смерти значительно повышен (ОР 20,99 [95 % ДИ 7,52–58,65], $p_{Cox} < 0{,}001$). Вторичное заживление анастомоза через длительно существующий гнойный свищ на шее также оказывает неблагоприятное воздействие на летальный прогноз в случаях, когда по эндоскопическим данным регистрировался рефлюкс желчи (ОР 2,66 [95 % ДИ 1,05–6,76], $p_{Cox} = 0{,}039$), не оказывая влияния на риск смерти от других причин (ОР 2,12 [95 % ДИ 0,86–5,21], $p_{Cox} = 0{,}101$). При этом кишечная непроходимость, диагностированная в послеоперационном периоде, не ассоциирована с повышением летальности (ОР 0,04 [95 % ДИ 0,0–20,50], $p_{Cox} = 0{,}321$), что объясняется своевременной диагностикой и лечением данного патологического состояния.

Использование метода планирования сопровождалось субтотальной мобилизацией толстой кишки у 52,3 % (57/109) пациентов с целью минимизации травматизма вмешательства. Мобилизация толстой кишки до селезеночного изгиба, особенно после ранее перенесенных операций на органах брюшной полости, при формировании изоперистальтического толстокишечного трансплантата позволяет снизить риск смерти от респираторных осложнений (ОР 0,35 [95 % ДИ 0,18–0,70], $p_{Cox} = 0{,}003$) и риск смерти от других причин (ОР 0,48 [95 % ДИ 0,26–0,89], $p_{Cox} = 0{,}020$). Это достигается снижением травматизма и риска повреждения анастомотического сосуда, который залегает именно в области селезеночного изгиба. Селезеночный изгиб является технически сложным в отношении его мобилизации при повторных и отсроченных эзофагоколопластиках

из-за спаечных процессов после предшествующих операций. Кроме того, в левом мезогастрии нередко находится ранее сформированная гастро- или еюностома, осложняющая процесс мобилизации селезеночного изгиба толстой кишки.

При пластике пищевода толстой кишкой предпочтение отдавалось изоперистальтической позиции трансплантата, которая является более физиологичной из-за сохранения кишкой своей активности в отдаленные сроки. Расположение трансплантата по физиологическому направлению перистальтики является протективным фактором в отношении снижения риска смерти из-за респираторных осложнений (ОР 0,36 [95 % ДИ 0,14–0,95], p_{Cox} = 0,040), не оказывая влияния на риск смерти от других причин (ОР 0,75 [95 % ДИ 0,35–1,58], p_{Cox} = 0,447). За счет расположения толстокишечного трансплантата в изопозиции обеспечивается профилактика респираторных осложнений (рефлюкс-эзофагита, респираторных осложнений – аспирационных пневмоний, респираторного дистресс-синдрома взрослых). Подобная тенденция прослеживается и при формировании пищеводно-толстокишечного анастомоза «конец в конец» с изоперистальтически расположенным васкуляризированным толстокишечным трансплантатом, сформированным путем субтотальной мобилизации ободочной кишки. Такой подход (изопозиция, постановка зонда при травматичной мобилизации) позволяет добиться того, что на риск смерти от всех причин (на основании моновариантного анализа) не оказывают влияние осложнения рефлюкса желчи (ОР 0,68 [95 % ДИ 0,37–1,23], p_{Cox} = 0,202), даже если осложнения развились.

В свою очередь постановка трансназального зонда для декомпрессии в условиях, когда имела место травматичная мобилизации ободочной кишки из массивного спаечного процесса при формировании толстокишечного трансплантата, дает возможность добиться снижения риска смерти от респираторных осложнений (ОР 0,47 [95 % ДИ 0,23–0,97], p_{Cox} = 0,042), а также от других причин (ОР 0,43 [95 % ДИ 0,21–0,86], p_{Cox} = 0,018).

Таким образом, толстокишечная пластика пищевода является сложной хирургической операцией, сопровождающейся высокой частотой послеоперационных осложнений и летальности. Основной причиной летальных исходов являются осложнения респираторного генеза, обусловленные чаще всего рефлюксом желчи (аспирационные пневмонии и респираторный дистресс-синдром взрослых).

Заключение. Метод планирования эзофагоколопластики позволяет выбрать наиболее подходящий толстокишечный сегмент, который можно расположить в изоперистальтической позиции, заранее спланировав уровни пересечения питающих сосудов исходя из индивидуальных особенностей ангиоархитектоники, и минимизировать риски смерти от респираторных осложнений и от других причин.

Независимыми факторами, снижающими риски смерти от респираторных осложнений и от других причин, являются формирование трансплантата в соответствии с разработанным методом планирования путем субтотальной мобилизации толстой кишки и с постановкой трансназального зонда в трансплантат в случаях, когда имела место травматичная мобилизация толстой кишки из спаечного процесса и при антиперистальтической позиции.

Неблагоприятными факторами в отношении повышения риска смерти от респираторных осложнений и от других причин являются факт развития тотального или субтотального некроза трансплантата, наличие длительно незаживающего шейного свища в условиях раневой инфекции, наличие рефлюкса желчи, III и IV стадии злокачественной опухоли.

Конфликт интересов. Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

Благодарности. Работа выполнена в рамках гранта Президента Республики Беларусь в области здравоохранения на 2018 г.

Acknowledgements. The work was performed under the grant of President of the Republic of Belarus in the field of health care for 2018.

Список использованных источников

1. Esophageal reconstruction by colon interposition after esophagectomy for cancer analysis of current indications, operative outcomes, and long-term survival / V. Reslinger [et al.] // J. Surg. Oncol. – 2016. – Vol. 113, N 2. – P. 159–164. https://doi.org/10.1002/jso.24118

2. Awsakulsutthi S., Havanond C. Retrospective study of anastomotic leakage between patients with and without vascular enhancement of esophageal reconstructions with colon interposition: Thammasat University Hospital experience / S. Awsakulsutthi, C. Havanond // Asian J. Surg. – 2015. – Vol. 38, N 3. – P. 145–149. https://doi.org/10.1016/j.asjsur.2015.01.005

3. Expanding the applications of microvascular surgical techniques to digestive surgeries: a technical review / H. Uchiyama [et al.] // Surg. Today. – 2012. – Vol. 42, N 2. – P. 111–120. https://doi.org/10.1007/s00595-011-0032-5

4. “Supercharged” isoperistaltic colon interposition for long-segment esophageal reconstruction / K. A. Kesler [et al.] // Ann. Thorac. Surg. – 2013. – Vol. 95, N 4. – P. 1162–1169. https://doi.org/10.1016/j.athoracsur.2013.01.006

5. Bakshi, A. Alternative conduits for esophageal replacement / A. Bakshi, D. J. Sugarbaker, B. M. Burt // Ann. Cardiothorac. Surg. – 2017. – Vol. 6, N 2. – P. 137–143. https://doi.org/10.21037/acs.2017.03.07

6. Ilyin, I. A. Results of three-stage esophagectomy with one-phase esophagocolonoplasty in esophageal and gastroesophageal junction carcinomas treatment / I. A. Ilyin // Novosti Khirurgii. – 2018. – Vol. 26, N 3. – P. 340–347. https://doi.org/10.18484/2305-0047.2018.3.340

7. Supercharged pedicled jejunal interposition for esophageal replacement: a 10-year experience / S. H. Blackmon [et al.] // Ann. Thorac. Surg. – 2012. – Vol. 94, N 4. – P. 1104–1111. https://doi.org/10.1016/j.athoracsur.2012.05.123

8. Ilyin, I. A. Substantiation of colon interposition for esophageal replacement with vascular augmentation for oncological patients / I. A. Ilyin, V. T. Malkevich // Oncol. News [Electronic resource]. – 2018. – Vol. 13, N 3. – P. 5–9. Mode of access : https://issuu.com/oncologynews/docs/onjf18/5. – Date of access : 18.06.2019.

9. Ильин, И. А. Метод планирования толстокишечной эзофагопластики при хирургическом лечении карцином пищевода и пищеводно-желудочного перехода : инструкция по применению / И. А. Ильин, В. Т. Малькевич, В. В. Акинфеев. – Минск : ГУ «Респ. науч.-практ. центр онкологии и мед. радиологии им. Н. Н. Александрова», 2018. – 11 с.

10. Identification of frequency, severity and risk factors of complications after open gastrectomy: retrospective analysis of prospectively collected database using the Clavien-Dindo classification / M. Nakagawa [et al.] // J. Med. Dent. Sci. – 2016. – Vol. 63, N 2–3. – P. 53–59. https://doi.org/10.11480/jmds.630303

11. Similar outcomes after primary and secondary esophagocoloplasty for caustic injuries / M. Chirica [et al.] // Ann. Thorac. Surg. – 2012. – Vol. 93, N 3. – P. 905–912. https://doi.org/10.1016/j.athoracsur.2011.12.054

12. Operative outcome of colon interposition in the treatment of esophageal cancer: a 20-year experience / C. D. Klink [et al.] // Surgery. – 2010. – Vol. 147, N 4. – P. 491–496. https://doi.org/10.1016/j.surg.2009.10.045

13. Colonic interposition after adult oesophagectomy: systematic review and meta-analysis of conduit choice and outcome / J. Brown [et al.] // J. Gastrointest. Surg. – 2018. – Vol. 22, N 6. – P. 1104–1111. https://doi.org/10.1007/s11605-018-3735-8

References

1. Reslinger V., Tranchart H., D’Annunzio E., Poghosyan T., Quero L., Munoz-Bongrand N., Corte H., Sarfati E., Cattan P., Chirica M. Esophageal reconstruction by colon interposition after esophagectomy for cancer analysis of current indications, operative outcomes, and long-term survival. *Journal of Surgical Oncology*, 2016, vol. 113, no. 2, pp. 159–164. https://doi.org/10.1002/jso.24118

2. Awsakulsutthi S., Havanond C. Retrospective study of anastomotic leakage between patients with and without vascular enhancement of esophageal reconstructions with colon interposition: Thammasat University Hospital experience. *Asian Journal of Surgery*, 2015, vol. 38, no. 3, pp. 145–149. https://doi.org/10.1016/j.asjsur.2015.01.005

3. Uchiyama H., Shirabe K., Morita M., Kakeji Y., Taketomi A., Soejima Y. [et al.]. Expanding the applications of microvascular surgical techniques to digestive surgeries: a technical review. *Surgery Today*, 2012, vol. 42, no. 2, pp. 111–120. https://doi.org/10.1007/s00595-011-0032-5

4. Kesler K. A., Pillai S. T., Birdas T. J., Rieger K. M., Okereke I. C., Ceppa D., Socas J., Starnes S. L. “Supercharged” isoperistaltic colon interposition for long-segment esophageal reconstruction. *Annals of Thoracic Surgery*, 2013, vol. 95, no. 4, pp. 1162–1169. https://doi.org/10.1016/j.athoracsur.2013.01.006

5. Bakshi A., Sugarbaker D. J., Burt B. M. Alternative conduits for esophageal replacement. *Annals of Cardiothoracic Surgery*, 2017, vol. 6, no. 2, pp. 137–143. https://doi.org/10.21037/acs.2017.03.07

6. Ilyin I. A. Results of three-stage esophagectomy with one-phase esophagocolonoplasty in esophageal and gastroesophageal junction carcinomas treatment. *Novosti Khirurgii*, 2018, vol. 26, no. 3, pp. 340–347. https://doi.org/10.18484/2305-0047.2018.3.340

7. Blackmon S. H., Correa A. M., Skoracki R., Chevray P. M., Kim M. P., Mehran R. J. [et al.]. Supercharged pedicled jejunal interposition for esophageal replacement: a 10-year experience. *Annals of Thoracic Surgery*, 2012, vol. 94, no. 4, pp. 1104–1111. https://doi.org/10.1016/j.athoracsur.2012.05.123

8. Ilyin I. A., Malkevich V. T. Substantiation of colon interposition for esophageal replacement with vascular augmentation for oncological patients. *Oncology News (electronic journal)*, 2018, vol. 13, no. 3, pp. 5–9. Available at: https://issuu.com/oncologynews/docs/onjf18/5 (accessed 18.06.2019).

9. Il’in I. A., Mal’kevich V. T., Akinfeev V. V. Planning method for colonic esophagoplasty in the surgical treatment of esophageal carcinomas and esophageal-gastric junction: instructions for use. Minsk, State Institution “Republican Scientific and Practical Center of Oncology and Medical Radiology named after N. N. Alexandrov”. 11 p. (in Russian).

10. Nakagawa M., Kojima K., Inokuchi M., Kato K., Sugita H., Otsuki S., Sugihara K. Identification of frequency, severity and risk factors of complications after open gastrectomy: retrospective analysis of prospectively collected database using the Clavien-Dindo classification. *Journal of Dental and Medical Sciences*, 2016, vol. 63, no. 2–3, pp. 53–59. https://doi.org/10.11480/jmds.630303

11. Chirica M., Vuarnesson H., Zohar S., Faron M., Halimi B., Bongrand N. M., Cattan P., Sarfati E. Similar outcomes after primary and secondary esophagocoloplasty for caustic injuries. *Annals of Thoracic Surgery*, 2012, vol. 93, no. 3, pp. 905–912. https://doi.org/10.1016/j.athoracsur.2011.12.054

12. Klink C. D., Binnebösel M., Schneider M., Ophoff K., Schumpelick V., Jansen M. Operative outcome of colon interposition in the treatment of esophageal cancer: a 20-year experience. *Surgery*, 2010, vol. 147, no. 4, pp. 491–496. https://doi.org/10.1016/j.surg.2009.10.045

13. Brown J., Lewis W. G., Foliaki A., Clark G. W. B., Blackshaw G. R. J. C., Chan D. S. Y. Colonic interposition after adult oesophagectomy: systematic review and meta-analysis of conduit choice and outcome. *Journal of Gastrointestinal Surgery*, 2018, vol. 22, no. 6, pp. 1104–1111. https://doi.org/10.1007/s11605-018-3735-8

Информация об авторе

Ильин Илья Анатольевич – канд. мед. наук, вед. науч. сотрудник. Республиканский научно-практический центр онкологии и медицинской радиологии им. Н. Н. Александрова (223040, агр. Лесной, Минский р-н, Республика Беларусь). E-mail: ileus@tut.by, ORCID: 0000-0002-5314-7618

Information about the author

Ilya A. *Ilyin* – Ph. D. (Med.), Leading researcher. N. N. Alexandrov National Cancer Centre (223040, Lesnoy, Minsk region, Republic of Belarus). E-mail: ileus@tut.by, ORCID: 0000-0002-5314-7618

ISSN 1814-6023 (Print)
ISSN 2524-2350 (Online)

УДК 616.61:616.611:616.16-018-053.8
https://doi.org/10.29235/1814-6023-2019-16-3-317-323

Поступила в редакцию 14.05.2019
Received 14.05.2019

К. С. Комиссаров[1], М. В. Дмитриева[2], Т. А. Летковская[3], В. С. Пилотович[4], О. В. Краско[5]

[1]Минский научно-практический центр хирургии, трансплантологии и гематологии, Минск, Республика Беларусь
[2]Городское клиническое патологоанатомическое бюро, Минск, Республика Беларусь
[3]Белорусский государственный медицинский университет, Минск, Республика Беларусь
[4]Белорусская медицинская академия последипломного образования, Минск, Республика Беларусь
[5]Объединенный институт проблем информатики НАН Беларуси, Минск, Республика Беларусь

ИММУНОФЛУОРЕСЦЕНТНАЯ МИКРОСКОПИЯ У ПАЦИЕНТОВ С IgA-НЕФРОПАТИЕЙ

Аннотация. Целью исследования было изучить у пациентов с IgA-нефропатией (ИГАН) частоту встречаемости различных иммунофлуоресцентных паттернов, а также их взаимосвязь с гистопатологическими критериями, используемыми в Оксфордской классификации MEST-C.

Ретроспективно с учетом критериев исключения было обследовано 72 пациента с ИГАН (средний возраст 32 (26, 32,6) года), из которых 72,2 % были мужчины. У 48,6 % пациентов была артериальная гипертензия (медиана суточной протеинурии – 870 (355; 1420) мг), у 8,4 % – изолированная гематурия (сывороточный креатинин – 104 (89; 126,5) мкмоль/л).

В ходе статистического анализа установлена взаимосвязь между интенсивностью депозитов IgA и наличием клеточных полулуний (C1-2) (p = 0,02). Депозиты C3 комплемента достоверно чаще встречались при эндотелиальной пролиферации (E1) (p = 0,007). Установлена обратная зависимость интенсивности свечения IgA от наличия депозитов IgM (p = 0,01) и прямая ее зависимость от интенсивности депозитов C3 (p = 0,001).

На основании полученных данных предполагается, что интенсивность депозитов IgA и C3 связана с гистопатологическими маркерами острой реакции C1-2 и E1 (согласно Оксфордской гистопатологической классификации). В свою очередь наличие депозитов IgM может свидетельствовать как о ранней стадии болезни, так и о развитии склеротических изменений.

Ключевые слова: почечная биопсия, IgA-нефропатия, имуннофлуоресцентные паттерны, иммуноглобулины, гистопатологическая картина, Оксфордская классификация, клинические проявления

Для цитирования: Иммунофлуоресцентная микроскопия у пациентов с IGA-нефропатией / К. С. Комиссаров [и др.] // Вес. Нац. акад. навук Беларусі. Сер. мед. навук. – 2019. – Т. 16, № 3. – С. 317–323. https://doi.org/10.29235/1814-6023-2019-16-3-317-323

K. S. Komissarov[1], M. V. Dmitrieva[2], T. A. Letkovskaya[3], V. S. Pilotovich[4], O. V. Krasko[5]

[1]Minsk Scientific and Practical Center of Surgery, Transplantology and Hematology, Minsk, Republic of Belarus
[2]City Clinical Pathology Bureau, Minsk, Republic of Belarus
[3]Belarusian State Medical University, Minsk, Republic of Belarus
[4]Belarusian Medical Academy of Postgraduate Education, Minsk, Republic of Belarus
[5]United Institute of Informatics Problems of the National Academy of Sciences of Belarus, Misnk, Republic of Belarus

IMMUNOFLUORESCENT MICROSCOPY IN PATIENTS WITH IgA NEPHROPATHY

Abstract. The aim of the study was to evaluate relations between the deposition of IgA, IgG, IgM, C3, C1q and baseline clinical features and pathological findings.

According to exclusion criteria, 72 patients with diagnosed primary IgAN who were biopsied from 2015 to 2017 in the district of the Minsk city, Belarus were included for retrospective analysis. All biopsy had to be reviewed according to the Oxford classification (MEST-C). We examined the immunofluorescence staining with antibodies against IgG, IgA, IgM, C3, C1q.

Mean age was 32 (26; 42.5) years, 72.2 % was men, 48.6 % of the patients had arterial hypertension. Median of proteinuria was 870 (355; 1420) mg/day, 8.4 % of the patients had isolated hematuria, serum creatinine – 104 (89; 126.5) μmol/l.

The patients with 3+ IgA deposits showed a significantly higher percentage of crescents (C1-2) than those with 2+ IgA deposits (p = 0.028). The presence of C3 deposits showed a gradual increase in the percentage of endothelial proliferation (E1) (p = 0.007). The degree of IgA deposits showed a significant negative relation to the IgM deposits (p = 0.01) and a positive relation to the C3 deposits (p = 0.001).

We found that the intensity of IgA and C3 deposits is associated with histopathology markers of the acute reaction (C1-2 and E1) according to the Oxford classification. At the same time, the appearance of the IgM deposits testifies the acute phase of the disease as well as the advanced sclerotic stage in some patients.

Keywords: kidney biopsy, IgA nephropathy, immunofluorescence pattern, immunoglobulins, histopathology findings, Oxford classification, clinical presentations

For citation: Komissarov K. S., Dmitrieva M. V., Letkovskaya T. A., Pilotovich V. S., Krasko O. V. Immunofluorescent microscopy in patients with IgA nephropathy. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seriya meditsinskikh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2019, vol. 16, no. 3, pp. 317–323 (in Russian). https://doi.org/10.29235/1814-6023-2019-16-3-317-323

Введение. Первое определение IgA-нефропатии дал французский исследователь J. Berger (позже болезнь была названа в его честь). В нем он указывает на важный гистопатологический критерий, который позволяет поставить диагноз, несмотря на разнообразие патологических изменений при световой микроскопии: «Нефробиопсия у этих пациентов позволяет выявить различные гистологические изменения, начиная от нормы и до хронического гломерулонефрита, который чаще носит фокальный характер без типичных признаков острого постинфекционного (постстрептококкового) гломерулонефрита. При этом при иммунофлуоресцентной микроскопии во всех случаях обнаруживается мезангиальная депозиция IgA, которая сопровождается отложением IgG и C3 меньшей интенсивности, а электронная микроскопия подтверждает наличие мезангиальных иммунных комплексов» [1]. Этим критерием является доминирующее отложение IgA в клубочках. Однако результаты поиска взаимосвязи полученных при иммунофлуоресцентном (ИФ) исследовании данных с клинической картиной болезни и патологическими особенностями почечной ткани при световой микроскопии (СМ) при этом варианте гломерулонефрита, а также влияние их на прогноз остаются противоречивыми.

В настоящее время широкую известность получила Оксфордская гистопатологическая классификация IgA-нефропатии (ИГАН), которая включает 5 характерных гистопатологических признаков, определяющих прогноз этой болезни: мезангиальную гиперклеточность (M), эндокапиллярную гиперклеточность (E), сегментарный склероз (S), тубулярную атрофию/интерстициальный склероз (T) и обнаруженные недавно клеточные полулуния (C). Однако в эту классификацию не были включены различные ИФ-паттерны, наблюдаемые при ИГАН. Несмотря на это, интерес к изучению прогностической ценности результатов ИФ-микроскопии сохраняется, так как это позволяет получить дополнительную информацию о роли иммунных реактантных депозитов в прогрессировании этого гломерулонефрита, а также выявить наиболее неблагоприятные формы хронической болезни почек (ХБП) на конечной стадии. Один из последних системных анализов результатов, полученных учеными Оксфордской группы, показал наличие статистически достоверной взаимосвязи между отложением депозитов IgA, C3, их интенсивностью и гистопатологическими критериями классификации Оксфорд MEST-C, что предполагает дальнейшее изучение прогностически важных ИФ-паттернов при ИГАН [2].

Цель нашего исследования – изучить у пациентов с IgA-нефропатией частоту встречаемости различных иммунофлуоресцентных паттернов, а также их взаимосвязь с гистопатологическими критериями, используемыми в Оксфордской классификации MEST-C.

Материалы и методы исследования. Ретроспективно были изучены истории болезней, биопсийные заключения и амбулаторные карты пациентов с гистологически верифицированным диагнозом ИГАН, которые наблюдались в нефрологических отделениях г. Минска (1, 4 и 9-я ГКБ) и в Городском нефрологическом центре за период с 2015 по 2017 г.

Диагноз ИГАН выставлялся на основании гистологического исследования при выполнении стандартных и гистохимических окрасок, а также ИФ-исследования. Образцы ткани почки, фиксированные в 10 %-ном растворе забуференного формалина, регидратировали последовательно через серию спиртов, заливали в парафин и делали срезы толщиной до 2–3 мк. Срезы окрашивали гематоксилином и эозином, реактивом Шиффа, трихромом по Массону, конго-красным, серебром по Джонсу. Прямое ИФ проводили для выявления иммуноглобулинов классов G, A, M, фибриногена, компонентов комплемента C3 и C1q, каппа и лямбда компонентами легких цепей (Polyclonal Rabbit Anti-Human/FITC, Daco, Denmark), интенсивность свечения определяли

полуколичественно (от 0 до 3+, где 0 – отсутствие свечения, 1+ – минимальное свечение, 2+ – умеренное и 3+ – максимальное). Основным критерием постановки диагноза было наличие изолированного преимущественного гранулярного отложения в мезангии гломерул депозитов IgA с возможным менее интенсивным кодоминирующим свечением IgG и/или IgM, C3-компонентом комплемента. Морфологический диагноз включал оценку показателей M, E, S, T, C согласно дополненной Оксфордской классификации MEST-C [3].

Критериями исключения из дальнейшего анализа были возраст пациента младше 18 лет, наличие менее 8 клубочков в почечном биоптате, вторичные формы гломерулонефрита в рамках системной красной волчанки, пурпуры Шенлейна–Геноха, хронических болезней печени, синдрома Альпорта, сахарного диабета и других аутоиммунных заболеваний.

Изучали клинические данные, включавшие пол, возраст, семейный анамнез болезней почек, начальные проявления ИГАН, т. е. первые симптомы этого хронического гломерулонефрита на момент выполнения чрескожной пункционной нефробиопсии (НБ), длительность наблюдения до выполнения НБ, цифры систолического (САД) и диастолического (ДАД) артериального давления, а также наличие артериальной гипертензии (АГ), при которой АД превышало 140/90 мм рт. ст. или требовалось назначение гипотензивной терапии. Проводили анализ следующих лабораторных тестов: суточная протеинурия (ПУ); гематурия, измеренная как число эритроцитов в поле зрения при большом увеличении микроскопа; сывороточный креатинин; уровень общего белка крови и мочевой кислоты. Состояние почечной функции оценивали по скорости клубочковой фильтрации (СКФ) с использованием формулы MDRD (Modification of Diet in Renal Disease).

Статистическую обработку данных проводили с помощью программного пакета STATISTICA. Тест Колмогорова–Смирнова использовали для определения соответствия изучаемой выборки нормальному распределению изучаемого признака. Данные, имевшие нормальное распределение, представлены в виде средней величины и стандартного отклонения; непараметрические переменные – в виде медианы и 25, 75 персентилей; категориальные переменные – в виде процентов. Для сравнения количественных признаков использовали *U*-критерий Манна–Уитни, для сравнения качественных – χ^2 и двухсторонний вариант точного критерия Фишера. Различия считали достоверными при $p < 0{,}05$.

Результаты и их обсуждение. За анализируемый период времени в г. Минске были выполнены 809 гистопатологических исследований, при этом диагноз ИГАН был выставлен 91 (22,8 %) пациенту. С учетом критериев включения для последующего анализа были отобраны заключения болезней 72 пациентов (средний возраст 32 (26; 42,5) года), из них 52 (72,2 %) мужчин. Медианы САД и ДАД составили 127,5 (120,0; 140,0) и 80 (80,0; 90,0) мм рт. ст. соответственно. Клинико-лабораторные показатели пациентов представлены в табл. 1.

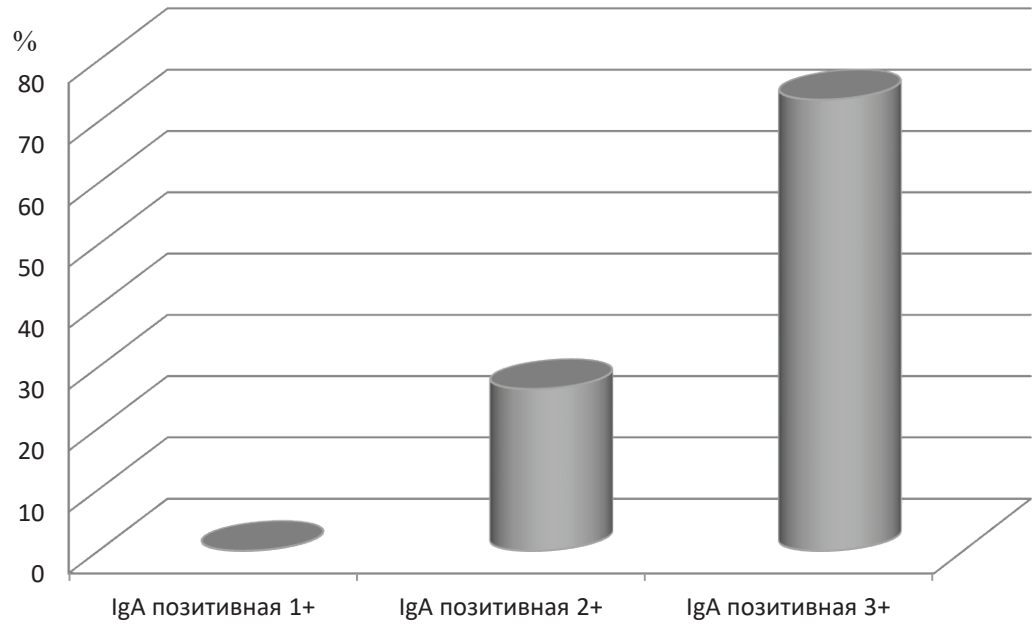
Т а б л и ц а 1. **Клинико-лабораторные показатели пациентов с ИГАН**

T a b l e 1. **Clinical laboratory data of IgA-nephropathy patients**

Возраст, лет	Время наблюдения до НБ, мес.	САД, мм рт. ст.	ДАД, мм рт. ст.	ПУ, мг/сут	К-во эритроцитов в поле зрения	Сывороточный креатинин, мкмоль/л	СКФ, мл/мин
32 (26; 42,5)	24 (6; 42)	127,5 (120; 140)	80 (80; 90)	810 (355; 420)	15 (5; 37,5)	104,5 (89; 126,5)	78 (59; 97)

Сравнительный анализ исходных клинических показателей в зависимости от результатов ИФ-исследования и, соответственно, степени интенсивности свечения IgA, C3, а также от наличия или отсутствия депозитов IgM, IgG, C1q не показал достоверного различия по возрасту, срокам ожидания выполнения НБ, наличию АГ, за исключением характерного для мужского пола отложения депозитов C3 максимальной интенсивности ($p = 0{,}048$), что может служить подтверждением теории более неблагоприятного течения ИГАН у мужчин.

При ИФ-исследовании доминатное нежногранулярное свечение IgA выявлялось преимущественно в мезангиальных зонах, однако в ряде случаев оно носило фокальный характер. У некоторых пациентов депозиты иммунных комплексов выявлялись парамезангиально, т. е.



Распределение частоты встречаемости депозитов IgA различной степени интенсивности у наблюдаемой когорты пациентов с ИГАН

Distribution of different-degree intensity IgA deposits in the observed cohort of the patients with IgA nephropathy

в области примыкания базальной мембраны к мезангиальному матриксу, а у 3 (4,2 %) – в гломерулярных базальных мембранах.

Наличие депозитов IgA в мезангии клубочков является диагностическим критерием болезни, а следовательно, должно наблюдаться у всех пациентов. Однако прогнозирование исхода течения болезни на основании различной степени интенсивности экспрессии этого иммуноглобулина изучена недостаточно. Некоторые ученые считают, что полуколичественная оценка свечения IgA позволит определить степень активности и стадию иммуновоспалительного процесса. В исследовании Y. Kobayashi с соавт. [4] показана прямая корреляционная связь между интенсивностью IgA депозитов и уровнем СКФ как на исходном этапе наблюдения, так и в конце наблюдения за пациентами. Кроме того, у 19 % пациентов авторами выявлена минимальная интенсивность свечения в 1+, что обратно коррелировало со степенью выраженности глобального гломерулосклероза. При этом минимальная степень интенсивности ассоциировалась с более высокой вероятностью наступления конечной стадии ХБП, а кроме того, многофакторный анализ показал более высокую чувствительность пациентов с IgA 2+ и IgA 3+ к назначению стероидов и торможению наступления почечной недостаточности [5] (см. рисунок).

По результатам нашего исследования, у наибольшего числа пациентов (80 %) отмечалась максимальная интенсивность свечения в 3+ согласно полуколичественному методу, тогда как минимальная степень свечения 1+ не определялась вообще, что позволяет предположить развитие начальных этапов иммуновоспалительной реакции в нашей когорте. В свою очередь сравнительный анализ показал четкую взаимосвязь между максимальной степенью свечения IgA в 3+ и наличием клеточных полулуний (p = 0,028) как одного из критериев активности воспалительного процесса согласно гистопатологической Оксфордской классификации (табл. 2).

Частота встречаемости иммуноглобулинов, отличных от IgA, а также компонента C3 системы комплемента в почечных клубочках представлена в табл. 3. Следует отметить, что частота положительных депозитов IgM встречалась у 83,3 % пациентов. Клинико-патологическая значимость IgM при ИГАН была показана в нескольких исследованиях. По данным японских ученых, частота встречаемости IgM составила 25 % от всех случаев ИГАН, также имелась прямая взаимосвязь с интенсивностью депозитов IgA [5]. Результаты другого исследования

Т а б л и ц а 2. **Гистопатологические критерии Оксфордской классификации с учетом имуногистохимических характеристик пациентов с ИГАН, *n* (%)**

T a b l e 2. **Histopathological criteria of Oxford classification according to immunohistochemical features of patients with IgA nephropathy, *n* (%)**

Депозит	M1	E1	S1	T0	T1	T2	C1-2
IgA:							
2+	11 (57,9)	3 (15,8)	11 (57,9)	13 (68,4)	4 (21,1)	2 (10,5)	1 (5,3)
3+	32 (60,4)	20 (37,7)	41 (77,4)	31 (58,5)	18 (34)	4 (7,5)	17 (32,1)
p	>0,99	0,141	0,185	0,566			0,028
IgG:							
+	7 (63,6)	4 (36,4)	8 (72,7)	4 (36,4)	5 (45,5)	2 (18,2)	2 (18,2)
–	36 (59)	19 (31,1)	44 (72,1)	40 (65,6)	17 (27,9)	4 (6,6)	16 (26,2)
p	>0,99	0,736	>0,99	0,091			0,719
IgM:							
+	14 (56)	8 (32)	18 (72)	15 (60)	8 (32)	2 (8)	12 (25,5)
–	29 (61,7)	15 (31,9)	34 (72,3)	29 (61,7)	14 (29,8)	4 (8,5)	6 (24)
p	0,801	>0,99	>0,99	>0,99			>0,99
C3:							
1+	13 (65)	8 (40)	16 (80)	12 (60)	6 (30)	2 (10)	4 (20)
2+	10 (50)	3 (15)	16 (80)	13 (65)	5 (25)	2 (10)	5 (25)
3+	13 (68,4)	11 (57,9)	15 (78,9)	11 (57,9)	11 (57,9)	1 (5,3)	7 (36,8)
–	7 (58,3)	1 (8,3)	5 (41,7)	7 (58,3)	4 (33,3)	1 (8,3)	2 (16,7)
p	0,668	0,007	0,086	0,991			0,588
C1q:							
+	3 (42,9)	3 (42,9)	5 (71,4)	4 (57,1)	1 (14,3)	2 (28,6)	2 (28,6)
–	40 (62,5)	19 (29,7)	47 (73,4)	39 (60,9)	21 (32,8)	4 (6,2)	15 (23,4)
p	0,422	0,669	>0,99	0,179			0,670

H. Nasri с соавт. [6] подтвердили эту частоту встречаемости, а также показали положительную ассоциацию IgM и сегментарного склероза (индекс S) согласно Оксфордской классификации. Суммируя результаты имеющихся в настоящее время наблюдений, можно отметить, что депозиты IgM могут быть связаны как с острыми повреждениями, такими как полулуния, мезангиальная гиперклеточность, так и с хроническими изменениями почечной ткани, включающими сегментарный гломерулосклероз, глобальный склероз, тубулярную атрофию и интерстициальный фиброз. Эти результаты свидетельствуют о том, что IgM депозиты оказываются в почечной ткани уже на ранних стадиях гломерулонефрита и остаются там до конечной стадии ХБП.

Т а б л и ц а 3. **Частота экспрессии IgG, IgM, C3c в мезангиальном пространстве клубочка**

T a b l e 3. **Rate of IgG, IgM, C3c expression in mesangium of glomeruli in IgA nephropathy**

Экспрессия	К-во пациентов	
	n	%
IgG позитивная	36	50
IgM позитивная	60	83,3
C3c позитивная:		
1+	21	29,2
2+	20	27,8
3+	19	26,4

Депозиты IgG определялись у 50 % наблюдаемых нами пациентов, тогда как, по данным R. Katafuchi с соавт. [5], распространенность депозитов IgG составила 16 % случаев. Кроме того, для этих пациентов было характерно более интенсивное свечение IgA и C3 и наличие эндокапиллярной гиперклеточности. Предыдущие наблюдения за этим феноменом показали, что отложения IgG при ИГАН характерны для лиц молодого возраста с сохраненной почечной функцией. В свою очередь Y. Wada с соавт. [7] установили, что при наличии депозитов IgG в клубочках у пациентов отмечались более высокие значения ПУ, которые требовали больше времени для достижения ремиссии, а в некоторых случаях мочевой синдром носил торпидный характер. Тем

не менее, по данным японских ученых, назначение стероидов улучшало исход ИГАН у лиц с кодоминирующими депозитами IgG [5]. Несмотря на столь высокую частоту встречаемости этого ИФ-признака, статистический анализ полученных нами данных не показал каких-либо достоверных ассоциаций с клинико-лабораторными, гистопатологическими и другими ИФ-характеристиками.

Хорошо известно, что активация системы комплемента может играть ключевую роль в патогенезе ИГАН. В ряде работ продемонстрировано, что полимерные комплексы IgA первого типа могут активировать систему комплемента на уровне почечного клубочка через альтернативный и/или лектиновый пути, что ведет к увеличению уровня ПУ и более быстрому снижению СКФ [8]. Статистический анализ полученных нами результатов показал, что степень интенсивности C3 напрямую зависела от интенсивности депозитов IgA (p = 0,001), а в почечном клубочке – от эндотелиальной гиперклеточности (E1), одного из критериев неблагоприятного исхода ИГАН согласно Оксфордской классификации (табл. 2). При этом наши результаты согласуются с данными работы H. Nasri [6], который сообщил об ассоциации между C3 депозитами и аналогичными критериями (E и S) Оксфордской классификации.

Заключение. В настоящее время авторы большинства научных работ указывают на важность иммуногистохимических исследований для оценки степени выраженности как иммуновоспалительных явлений, так и хронических дистрофических изменений у пациентов с ИГАН. Результаты нашего исследования подтверждают, что сочетание IgA с отложением депозитов IgG, C3 в клубочках свидетельствует преимущественно об остром иммуновоспалительном процессе, тогда как наличие отложений IgM может указывать либо на раннюю стадию болезни без выраженных клинических проявлений, либо, наоборот, на наличие глубоких склеротических изменений в почечной ткани. Основным ограничением, которое не позволяет использовать в настоящее время этот метод диагностики для определения терапевтической тактики, является его полуколичественный характер, который привносит субъективность в оценку интенсивности свечения иммуноглобулиновых антисывороток и затрудняет валидизацию на более крупной выборке пациентов в рамках многоцентровых исследований.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список используемых источников

1. Les depots intercapillaires d'IgA-IgG / J. Berger [et al.] // J. Urol. Nephrol. – 1968. – Vol. 74, N 9. – P. 694–695.

2. Immunostaining findings in IgA nephropathy: correlation with histology and clinical outcome in the Oxford classification patient cohort / S. S. Bellur [et al.] // Nephrol. Dial. Transplant. – 2011. – Vol. 26, N 8. – P. 2533–2536. https://doi.org/10.1093/ndt/gfq812

3. Oxford Classification of IgA nephropathy 2016: an update from the IgA Nephropathy Classification Working Group / H. Trimarchi [et al.] // Kidney Int. – 2017. – Vol. 91, N 5. – P. 1014–1021. https://doi.org/10.1016/j.kint.2017.02.003

4. IgA nephropathy: prognostic significance of proteinuria and histological alterations / Y. Kobayashi [et al.] // Nephron. – 1983. – Vol. 34, N 3. – P. 146–153. https://doi.org/10.1159/000183000

5. Comprehensive evaluation of the significance of immunofluorescent findings on clinicopathological features in IgA nephropathy / R. Katafuchi [et al.] // Clin. Exp. Nephrol. – 2019. – Vol. 23, N 2. – P. 169–181. https://doi.org/10.1007/s10157-018-1619-6

6. Correlation of immunostaining findings with demographic data and variables of Oxford classification in IgA nephropathy / H. J. Nasri [et al.] // Nephropathology. – 2013. – Vol. 2, N 3. – P. 190–195. https://doi.org/10.12860/JNP.2013.30

7. Clinical significance of IgG deposition in the glomerular mesangial area in patients with IgA nephropathy / Y. Wada [et al.] // Clin. Exp. Nephrol. – 2013. – Vol. 17, N 1. – P. 73–82. https://doi.org/10.1007/s10157-012-0660-0

8. Activation of the alternative pathway of complement by human serum IgA / P. S. Hiemstra [et al.] // Eur. J. Immunol. – 1987. – Vol. 17, N 3. – P. 321–326. https://doi.org/10.1002/eji.1830170304

References

1. Berger J., Hinglais N. Les depots intercapillaires d'IgA-IgG. *Journal of Urology and Nephrology*, 1968, vol. 74, no. 9, pp. 694–695.

2. Bellur S. S., Troyanov S., Cook H. T., Roberts I. S. D. Immunostaining findings in IgA nephropathy: correlation with histology and clinical outcome in the Oxford classification patient cohort. *Nephrology Dialysis Transplantation*, 2011, vol. 26, no. 8, pp. 2533–2536. https://doi.org/10.1093/ndt/gfq812

3. Trimarchi H., Barratt J., Cattran D. C., Cook H. T., Coppo R., Haas M. [et al.]. Oxford Classification of IgA nephropathy 2016: an update from the IgA Nephropathy Classification Working Group. *Kidney International*, 2017, vol. 91, no. 5, pp. 1014–1021. https://doi.org/10.1016/j.kint.2017.02.003

4. Kobayashi Y., Tateno S., Hiki Y., Shigematsu H. IgA nephropathy: prognostic significance of proteinuria and histological alterations. *Nephron*, 1983, vol. 34, no. 3, pp. 146–153. https://doi.org/10.1159/000183000

5. Katafuchi R., Nagae H., Masutani K., Tsuruya K., Mitsuiki K. Comprehensive evaluation of the significance of immunofluorescent findings on clinicopathological features in IgA nephropathy. *Clinical and Experimental Nephrology*, 2019, vol. 23, no. 2, pp. 169 – 181. https://doi.org/10.1007/s10157-018-1619-6

6. Nasri H., Sajjadieh S., Mardani S., Momeni A., Merikhi A., Madihi Y., Ghiessari A., Naieni A. E. Correlation of immunostaining findings with demographic data and variables of Oxford classification in IgA nephropathy. *Journal of Nephropathology*, 2013, vol. 2, no. 3, pp. 190–195. https://doi.org/10.12860/JNP.2013.30

7. Wada Y., Ogata H., Takeshige Y., Takeshima A., Yoshida N., Yamamoto M., Ito H., Kinugasa E. Clinical significance of IgG deposition in the glomerular mesangial area in patients with IgA nephropathy. *Clinical and Experimental Nephrology*, 2013, vol. 17, no. 1, pp. 73–82. https://doi.org/10.1007/s10157-012-0660-0

8. Hiemstra P. S., Gorter A., Stuurman M. E., Van Es. L. A., Daha M. R. Activation of the alternative pathway of complement by human serum IgA. *European Journal of Immunology*, 1987, vol. 17, no. 3, pp. 321–326. https://doi.org/10.1002/eji.1830170304

Информация об авторах

Комиссаров Кирилл Сергеевич – канд. мед. наук, доцент, заведующий отделом. Минский научно-практический центр хирургии, трансплантологии и гематологии (ул. Семашко, 8, 220116, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: kirill_ka@tut.by

Дмитриева Маргарита Владимировна – врач-патологоанатом. Городское клиническое патологоанатомическое бюро (ул. Семашко, 8/8, 220116, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: mvdmitieva@inbox.ru

Летковская Татьяна Анатольевна – канд. мед. наук, доцент, заведующий кафедрой. Белорусский государственный медицинский университет (пр. Дзержинского, 83, 220116, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: taletkovskaya@mail.ru

Пилотович Валерий Станиславович – д-р мед. наук, профессор. Белорусская медицинская академия последипломного образования (ул. П. Бровки, 3/3, 220013, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: pilotovich@mail.ru

Красько Ольга Владимировна – канд. техн. наук, доцент, вед. науч. сотрудник. Объединенный институт проблем информатики Национальной академии наук Беларуси (ул. Сурганова, 6, 220013, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: krasko@newman.bas-net.by

Information about the authors

Kirill S. Komissarov – Ph. D. (Med.), Assistant Professor, Head of the Department. Minsk Scientific and Practical Center of Surgery, Transplantology and Hematology (8, Semashko Str., 220116, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: kirill_ka@tut.by

Margarita V. Dmitrieva – pathologist. City Clinical Pathology Bureau (8/8, Semashko Str., 220116, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: mvdmitieva@inbox.ru

Tatyiana A. Letkovskaya – Ph. D. (Med.), Assistant Professor, Head of the Department. Belarusian State Medical University (83, Dzerzhinski Ave., 220116, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: taletkovskaya@mail.ru

Valery S. Pilotovich – D. Sc. (Med.), Professor. Belarusian Medical Academy of Postgraduate Education (3/3, P. Browka Str., 220013, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: pilotovich@mail.ru

Olga V. Krasko – Ph. D. (Tech.), Assistant Professor, Leading researcher. United Institute of Informatics Problems of the National Academy of Science of Belarus (6, Surganov Str., 220013, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: krasko@newman.bas-net.by

ISSN 1814-6023 (Print)
ISSN 2524-2350 (Online)

УДК 616.853-039.31:616.13-007.64
https://doi.org/10.29235/1814-6023-2019-16-3-324-331

Поступила в редакцию 29.10.2018
Received 29.10.2018

Н. И. Нечипуренко, Р. Р. Сидорович, И. Д. Пашковская, Ю. И. Степанова, О. Л. Змачинская, Т. А. Прокопенко

Республиканский научно-практический центр неврологии и нейрохирургии, Минск, Республика Беларусь

ДИАГНОСТИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ БИОХИМИЧЕСКИХ МАРКЕРОВ РАЗВИТИЯ ЭПИЛЕПТИЧЕСКИХ ПРИСТУПОВ ПРИ АРТЕРИАЛЬНЫХ АНЕВРИЗМАХ

Аннотация. Целью исследования являлось установление диагностической значимости биохимических показателей, рассматриваемых в качестве маркеров эпилептических приступов при артериальных аневризмах (АА). Обследовано 82 пациента с АА (средний возраст 50,4 ± 11,5 года) с эпиприступами (35 чел.) и без таковых (47 чел.). До лечения в плазме крови пациентов определяли биохимические показатели (лактат, пируват, продукты, реагирующие с тиобарбитуровой кислотой (ТБК-П)), антиоксидантную активность сыворотки крови, активность супероксиддисмутазы и каталазы, фактор некроза опухоли-альфа (ФНО-ά). Для характеристики диагностической значимости результатов определяли диагностическую чувствительность (ДЧ), диагностическую специфичность (ДС) и диагностическую эффективность (ДЭ). По результатам выполненных биохимических тестов, включая определение содержания лактата, индекса лактат/пируват, активности каталазы, уровня ТБК-П и ФНО-ά в крови, установлена их высокая диагностическая значимость, что позволяет рассматривать данные показатели в качестве маркеров развития эпилептических приступов при АА. К числу наиболее диагностически значимых тестов для выявления риска развития эпилептических приступов при АА следует отнести концентрацию ФНО-ά с ДЧ 73 %, ДС 79 %, ДЭ 75 %.

Ключевые слова: артериальные аневризмы, эпилептические приступы, биохимические показатели, маркеры развития эпилептических приступов, фактор некроза опухоли-альфа

Для цитирования: Диагностическая значимость биохимических маркеров развития эпилептических приступов при артериальных аневризмах / Н. И. Нечипуренко [и др.] // Вес. Нац. акад. навук Беларусі. Сер. мед. навук. – 2019. – Т. 16, № 3. – С. 324–331. https://doi.org/10.29235/1814-6023-2019-16-3-324-331

N. I. Nechipurenko, R. R. Sidorovich, I. D. Pashkovskaya, Y. I. Stepanova, O. L. Zmachinskaya, T. A. Prokopenko

Republican Research and Clinical Center of Neurology and Neurosurgery, Minsk, Republic of Belarus

DIAGNOSTIC SIGNIFICANCE OF BIOMARKERS OF THE EPILEPTIC SEIZURES DEVELOPMENT IN PATIENTS WITH ARTERIAL ANEURYSMS

Abstract. The aim of the study was to establish the diagnostic significance of biochemical parameters, considered as markers of epileptic seizures in patients with arterial aneurysms (AA). 82 patients with AA (50.4 ± 11.5 year-old) with epileptic seizures (35 persons) and without them (47 persons) were examined. Before treatment, the following biochemical parameters were determined in plasma of patients: lactate, pyruvate, products reacting with thiobarbituric acid (TBA-P), antioxidant activity of the serum, activity of superoxidedismutase and catalase, tumor necrosis factor-alpha (TNF-ά). To characterize the diagnostic significance of the results, the diagnostic sensitivity and the diagnostic efficacy were determined. The complex of biochemical tests with high diagnostic significance, consisting of lactate, lactate/pyruvateindex, catalase activity, TBA-P and TNF-α, was established in patients with AA with epileptic seizures. It allows considering these parameters as markers of epileptic seizures development in patients with AA. Among the most diagnostically significant tests for detection of epileptic seizures in patients with AA should be considered the concentration of TNF-ά with diagnostic sensitivity of 73 %, the diagnostic specificity of 79 % and the diagnostic efficacy of 75 %.

Keywords: arterial aneurysms, epileptic seizures, biochemical indicators, markers of epileptic seizures development, tumor necrosis factor-alpha

For citation: Nechipurenko N. I., Sidorovich R. R., Pashkovskaya I. D., Stepanova Y. I., Zmachinskaya O. L., Prokopenko T. A. Diagnostic significance of biomarkers of the epileptic seizures development in patients with arterial aneurysms. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seriya meditsinskikh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2019, vol. 16, no. 3, pp. 324–331 (in Russian). https://doi.org/10.29235/1814-6023-2019-16-3-324-331

Введение. Аневризмы сосудов головного мозга, особенно расположенные супратенториально, в 14 % случаев осложняются эпилептическими приступами. Кровотечение из аневризмы повышает риск развития приступов в несколько раз [1].

Дискутабельными являются вопросы возникновения эпилептических приступов при наличии артериальных аневризм (АА). Существует несколько гипотез их возникновения. Во-первых, сдавление и инфаркт структур височной доли, которые имеют низкий порог судорожной готовности и являются эпилептогенными очагами при их повреждении. Во-вторых, минимальные аневризматические утечки крови могут способствовать возникновению эпилептического фокуса в поврежденной зоне мозга [2]. В-третьих, кальцифицированные стенки аневризмы ведут себя подобно гамартомам и могут приводить к развитию эпилепсии [3]. Описаны случаи эпилепсии и при неразорвавшихся аневризмах малых размеров [4].

Молодой возраст (младше 40 лет), тяжесть клинического состояния, высокая плотность кровоизлияния при разрыве АА, острая гидроцефалия, повторное истечение крови способствуют возникновению приступов в момент кровоизлияния [5]. При эпилепсии наблюдаются признаки нарушения процессов клеточного обмена с развитием митохондриальной дисфункции, а также активация процессов перекисного окисления липидов и белков [6, 7].

Нейрохирургические вмешательства могут приводить к развитию ранних и поздних приступов по двум механизмам, которые тесно взаимосвязаны. Один из них может быть обусловлен генерацией свободных радикалов, вызываемой, как правило, экстравазальной утечкой компонентов крови. Повторное воздействие свободных радикалов способствует формированию эпилептического фокуса по типу киндлинга. Формирование свободных радикалов наблюдалось при моделировании киндлинга как *in vitro* [8], так и *in vivo* [9]. Другой механизм может быть обусловлен нарушением чрезмембранного ионного баланса вследствие ишемии и гипоксии, для которых характерны снижение запасов аденозинтрифосфата и сдвиг мембранного потенциала, контролируемого деятельностью Na-K-АТФ-азы, что приводит к развитию спонтанных пароксизмальных разрядов.

Окислительный стресс способствует прогрессированию заболеваний сосудов головного мозга, а кроме того, усиливает развитие нейрогенного воспаления, связанного с активацией глиальных клеток, в частности астроцитов и микроглии, в местах повреждения [10]. Показано, что некоторые цитокины в стенках церебральных аневризм, особенно фактор некроза опухоли (ФНО-ά), активируют продукцию $^{\bullet}O_2^-$ и H_2O_2 при нарушении регуляции активности NADPH-оксидазы [11].

Свободные радикалы могут вызывать эндотелиальную дисфункцию и способствовать накоплению макрофагов в стенках церебральных сосудов, усиливая тем самым воспалительную реакцию. Известно, что инфильтрация макрофагами является отличительным признаком аневризматического повреждения сосудов головного мозга. Установлено, что при уменьшении количества макрофагов происходит снижение распространенности аневризм сосудов головного мозга у мышей [12]. Макрофаги и другие клетки воспаления секретируют различные провоспалительные цитокины и матриксные металлопротеиназы, которые способствуют ремоделированию сосудистой стенки, ее ослаблению и растяжению. Свободные радикалы детерминируют апоптоз и снижают синтез коллагена с ослаблением стенок артерий [13, 14].

Ряд современных научных исследований в области нейробиологии посвящен изучению роли апоптоза нейронов и глии в активации эпилептической активности [15]. Многочисленные исследования подтверждают важное значение каспаз и белков семейства ФНО-ά в приступ-индуцированной клеточной гибели [16, 17].

Согласно классическому определению, данному международной рабочей группой (Biomarkers Definitions Working Group) в 2001 г., «биомаркер (биологический маркер) – это характеристика, которая может быть объективно измерена и оценена как индикатор нормальных биологических процессов, патологических процессов или фармакологических ответов на терапевтическое вмешательство» [18]. Биомаркеры изучаемых заболеваний должны удовлетворять ряду специфических характеристик, таких как простота количественного определения в тканях, стабильность в общей популяции, независимость от коморбидных факторов, точность, быстрота и воспроизводимость измерения в различное время и в различных центрах, высокая чувствительность и специфичность, прогностическая ценность [19].

В доступных литературных источниках отсутствует информация о диагностической достоверности содержания ряда биохимических показателей, характеризующих про-, антиоксидантное

состояние крови, углеводно-энергетический обмен и уровень провоспалительных цитокинов в крови пациентов с АА при эпилептических приступах.

Для установления диагностической значимости исследуемых показателей необходимо определять их диагностическую чувствительность (ДЧ), диагностическую специфичность (ДС) и диагностическую точность (эффективность) (ДЭ) [20]. Чувствительность теста отражает вероятность положительного результата у пациента с наличием конкретного заболевания, т. е. способность выявлять заболевание. При этом чем она выше, тем чаще с помощью данного показателя будет диагностироваться заболевание, а следовательно, тем более он эффективен. В то же время если такой высокочувствительный тест оказывается отрицательным, то наличие заболевания маловероятно, поэтому его следует применять для исключения патологического процесса. Специфичность теста демонстрирует вероятность отрицательного результата у пациента без конкретной патологии, поэтому чем выше специфичность метода, тем более высока вероятность исключения заболевания. Общая точность, или эффективность, является объективным отражением ложноотрицательной диагностики (невыявления патологии) и ложноположительной диагностики (гипердиагностики) патологического процесса.

Цель исследования – установление диагностической значимости биохимических показателей, рассматриваемых в качестве маркеров эпилептических приступов при артериальных аневризмах.

Материалы и методы исследования. Проведено обследование 82 пациентов (41 (50 %) женщины, 41 (50 %) мужчины, средний возраст 50,4 ± 11,5 года) с АА с эпиприступами (основная группа) и без таковых (контрольная группа), госпитализированных в нейрохирургические отделения РНПЦ неврологии и нейрохирургии в 2016–2018 гг.

Критериями включения в исследование являлись возраст от 18 до 70 лет, эпилептические приступы при АА, АА без эпилептических приступов.

Критерии исключения из исследования: декомпенсированная патология органов сердечно-сосудистой и дыхательной систем, сахарный диабет с отсутствием эффекта от введения инсулина, тяжелая хроническая почечная и печеночная недостаточность, беременность, онкологические заболевания, инфекционные заболевания в острой и хронической стадиях, воспалительный процесс в организме, психические заболевания.

В основную группу вошли 35 пациентов (12 женщин и 23 мужчины) с эпилептическими приступами на фоне неразорвавшихся и разорвавшихся АА (средний возраст 48,4 ± 14,7 года). Контрольную группу составили 47 пациентов (29 женщин и 18 мужчин) с неразорвавшимися и разорвавшимися АА (средний возраст 53,2 ± 10,1 года).

Биохимические показатели в норме изучены у 27 практически здоровых лиц, средний возраст которых не отличался от среднего возраста пациентов.

Биохимические исследования у пациентов проводили на 1–2-е сутки после поступления в стационар, до оперативного лечения. Концентрацию лактата определяли на анализаторе BiosenC_line. Содержание пирувата изучали модифицированным методом Умбрайта [21]. Активность процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) в плазме крови определяли по содержанию вторичных продуктов, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой (ТБК-П), по методике, модифицированной В. А. Костюком [22]. Количественное определение антиоксидантной активности (АОА) в сыворотке крови проводили спектрофотометрически с помощью набора реагентов «Оксистат» производства ИБОХ НАНБ (Беларусь). Активность супероксиддисмутазы (СОД) в цельной крови изучали по реакции супероксидзависимого окисления кверцетина [23], активность каталазы в плазме крови – по методу, описанному в работе [24]. Концентрацию фактора некроза опухоли-альфа (ФНО-ά) в сыворотке крови определяли на иммуноферментном анализаторе BioTek методом твердофазного иммуноферментного анализа ELISA, используя тест-наборы ЗАО «Вектор-Бест».

Для характеристики диагностической значимости результатов исследования определяли ДЧ, характеризующую процент положительных результатов теста при наличии признаков заболевания, ДС, характеризующую процент отрицательных результатов теста при отсутствии признаков заболевания, а также ДЭ, характеризующую диагностическую достоверность и значимость теста по общепринятым формулам [21].

Результаты и их обсуждение. Анализ критериев диагностической значимости биохимических параметров у всех пациентов с АА без разделения по наличию или отсутствию в анамнезе эпилептических приступов, представленных в табл. 1, показал, что наиболее информативными тестами являются содержание лактата, индекс лактат/пируват (Л/П), активность каталазы и уровень ФНО-ά. ДЧ этих тестов составила 73, 77, 70 и 76 %, ДС – 77, 81, 81 и 85 %, ДЭ –74, 76, 75 и 78 % соответственно, что указывает на их высокую диагностическую достоверность.

Таблица 1. **Критерии диагностической значимости биохимических показателей у пациентов с АА (*n* = 82) относительно здоровых лиц**

Table 1. **Diagnostic value criteria of biochemical parameters in patients with AA (*n* = 82) relatively healthy individuals**

Показатель	ДЧ, %	ДС, %	ДЭ, %
Лактат	73	77	74
Пируват	10	74	26
Индекс Л/П	77	81	76
СОД	22	70	34
Каталаза	70	81	75
ТБК-П	51	77	58
АОА	6	44	16
ФНО- ά	76	85	78

Оценка критериев диагностической ценности биохимических параметров у пациентов с АА на фоне эпиприступов, представленных в табл. 2, показала, что наиболее информативными тестами являются определение содержания лактата, индекса Л/П, активности каталазы, уровня ТБК-П и ФНО-ά. Так, ДЧ для этих тестов составила 80, 70, 70, 74 и 80 %, ДС – 77, 81, 81, 77 и 85 %, ДЭ – 79, 75, 71, 76 и 82 % соответственно, что свидетельствует об их высокой диагностической надежности.

Комплекс эффективных диагностических тестов в этой группе пациентов расширился в сравнении с данными общей группы пациентов с АА. Так, тест ТБК-П приобрел высокую диагностическую значимость. Это свидетельствует об определенных особенностях метаболизма у пациентов с эпилептическими приступами, коморбидных с АА.

Таблица 2. **Критерии диагностической значимости биохимических показателей у пациентов с АА с эпилептическими приступами (*n* = 35) относительно здоровых лиц**

Table 2. **Diagnostic value criteria of biochemical parameters in patients with AA with epileptic seizures (*n* = 35) relatively healthy individuals**

Показатель	ДЧ, %	ДС, %	ДЭ, %
Лактат	80	77	79
Пируват	11	74	39
Индекс Л/П	70	81	75
СОД	11	70	37
Каталаза	70	81	71
ТБК-П	74	77	76
АОА	3	44	21
ФНО- ά	80	85	82

Критерии диагностической ценности биохимических параметров у пациентов с АА без эпиприступов представлены в табл. 3. Несмотря на высокую специфичность определения содержания лактата, индекса Л/П, каталазы, ТБК-П и ФНО-ά, указывающую на то, что установленный комплекс биохимических тестов не будет выявляться у лиц без АА, диагностическая эффективность изучаемых показателей в данной группе пациентов была низкой.

Т а б л и ц а 3. **Критерии диагностической значимости биохимических показателей у пациентов с АА без эпилептических приступов (*n* = 47) относительно здоровых лиц**

T a b l e 3. **Diagnostic value criteria of biochemical parameters in patients with AA without epileptic seizures (*n* = 47) relatively healthy individuals**

Показатель	ДЧ, %	ДС, %	ДЭ, %
Лактат	57	77	65
Пируват	9	74	32
Индекс Л/П	66	81	72
СОД	21	70	39
Каталаза	36	81	53
ТБК-П	36	67	51
АОА	9	44	22
ФНО-ά	43	85	58

Таким образом, по результатам проведения диагностического поиска установлен оптимальный комплекс биохимических тестов с высокой диагностической значимостью, позволяющий сбалансировать критерии ДЧ, ДС и ДЭ, что исключает как гипердиагностику, так и недооценку влияния эпилептических приступов на клиническое состояние пациентов с АА.

Для уточнения особенностей метаболических процессов при АА с эпилептическими приступами проведен расчет критериев диагностической значимости в сравнении с данными пациентов с АА без эпиприступов (табл. 4).

Т а б л и ц а 4. **Критерии диагностической значимости биохимических показателей у пациентов с АА и эпиприступами (*n* = 35) относительно пациентов с АА без эпиприступов (*n* = 47)**

T a b l e 4. **Diagnostic value criteria of biochemical parameters in patients with AA with epileptic seizures (*n* = 35) relatively patients with AA without epileptic seizures (*n* = 47)**

Показатель	ДЧ, %	ДС, %	ДЭ, %
Лактат	43	79	64
Пируват	54	71	63
Индекс Л/П	29	73	54
СОД	14	73	48
Каталаза	43	73	60
ТБК-П	57	75	67
АОА	20	78	56
ФНО-ά	73	79	75

Выявлено, что высокой диагностической достоверностью обладает лишь уровень ФНО-ά с ДЧ 73 %, ДС 79 % и ДЭ 75 %. Следовательно, для понимания механизмов развития эпилептических приступов при АА требуется дальнейшее изучение роли ФНО-ά в формировании эпилептогенных очагов в церебральных структурах.

В настоящее время известно, что ФНО-ά является медиатором воспаления, иммунного ответа и апоптоза в организме человека, в связи с чем были предложены концепции, определяющие роль ФНО-ά в развитии эпилептических приступов. Показано, что при хроническом воспалении он является индуктором эндотелиальной дисфункции и метаболических нарушений в тканях, что служит подтверждением роли ФНО-ά в патогенезе ряда заболеваний ЦНС [25]. Существует воспалительная теория эпилептогенеза [26, 27], основным постулатом которой является утверждение, что хронизации воспалительного процесса при эпилепсии способствуют активация микроглии и астроцитов, сопровождающиеся повреждением нейронов. При этом в основе воспаления в тканях головного мозга лежит повреждение гематоэнцефалического барьера, которое вызывает каскад иммунных реакций, приводящих как к индукции эпилептического синдрома, так и к его прогрессированию [28]. Считается, что в этом процессе основную роль играют цитокины, обладающие про- и антиконвульсантными свойствами (ИЛ-1β, ИЛ-8 и ФНО-ά) [29]. ИЛ-1β может

увеличивать высвобождение глутамата из глиальных клеток посредством стимуляции продукции ФНО-ά, что приводит к повышению уровня внеклеточного глутамата [30]. Высвобождение глутамата из астроцитов может играть определенную роль в возникновении приступоподобных (seizure-like) состояний [31].

Заключение. Таким образом, по результатам выполненных биохимических тестов, включая определение содержания лактата, индекса Л/П, активности каталазы, уровня ТБК-П и ФНО-ά в крови, установлена их высокая диагностическая значимость, что позволяет рассматривать данные показатели в качестве маркеров, определяющих у пациентов с АА высокую предрасположенность к развитию эпилептических приступов. К числу наиболее диагностически значимых маркеров с высокими чувствительностью и специфичностью следует отнести провоспалительный цитокин ФНО-ά, определение которого позволяет улучшить качество диагностики эпиприступов при аневризмах сосудов головного мозга.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список использованных источников

1. Литовченко, Т. А. Эпилепсия и эпилептические припадки после нейрохирургических операций (Аналитический обзор литературы) / Т. А. Литовченко, В. А. Флорикян // Укр. вісн. психоневрології. – 2014. – Т. 22, № 3. – С. 139–145.

2. Sena, J. C. Unruptured intracranial aneurysm presenting with epileptic seizure / J. C. Sena, Y. Reynier, B. Alliez // Arq. Neuropsiquiatr. – 2003. – Vol. 61, N 3A. – P. 663–667. https://doi.org/10.1590/s0004-282x2003000400026

3. Unusual association of intractable temporal lobe seizures and intracranial aneurysms in an adolescent: is it a coincidence? / S. S. Baeesa [et al.] // Pediatr. Neurosurg. – 1998. – Vol. 28, N 4. – P. 198–203. https://doi.org/10.1159/000028650

4. Kamali, A. W. Aneurysms and epilepsy: an increasingly recognized cause / A. W. Kamali, O. C. Cockerell, P. Butlar // Seizure. – 2004. – Vol. 13, N 1. – P. 40–44. https://doi.org/10.1016/s1059-1311(03)00075-x

5. Seizures and epilepsy following aneurysmal subarachnoid hemorrhage : incidence and risk factors / K.-S. Choi [et al.] // J. Korean Neurosurg. Soc. – 2009. – Vol. 46, N 2. – P. 93–98. https://doi.org/10.3340/jkns.2009.46.2.93

6. Chang, S.-J. Mitochondrial matters of the brain: mitochondrial dysfunction and oxidative status in epilepsy / S.-J. Chang, B.-C. Yu // J. Bioenerg. Biomembranes. – 2010. – Vol. 42, N 6.– P. 457–459. https://doi.org/10.1007/s10863-010-9317-4

7. Zsurka, G. Mitochondrial dysfunction in neurological disorders with epileptic phenotypes / G. Zsurka, W. S. Kunz // J. Bioenerg. Biomembranes. – 2010. – Vol. 42, N 6. – P. 443–448. https://doi.org/10.1007/s10863-010-9314-7

8. Free radical production correlates with cell death in an in vitro model of epilepsy / M. V. Frantseva [et al.] // Eur. J. Neurosci. – 2000. – Vol. 12, N 4. – P. 1431–1439. https://doi.org/10.1046/j.1460-9568.2000.00016.x

9. Oxidative stress is involved in seizure-induced neurodegeneration in the kindling model of epilepsy / M. V. Frantseva [et al.] // Neuroscience. – 2000. – Vol. 97, N 3. – P. 431–435. https://doi.org/10.1016/s0306-4522(00)00041-5

10. The role of oxidative stress in cerebral aneurysm formation and rupture / R. M. Starke [et al.] // Curr. Neurovasc. Res. – 2013. – Vol. 10, N 3. – P. 247–255. https://doi.org/10.2174/15672026113109990003

11. Juric, V. TNFα-induced apoptosis enabled by CCN1/CYR61: pathways of reactive oxygen species generation and cytochrome c release / V. Juric, C. C. Chen, L. F. Lau // PLoS ONE. – 2012. – Vol. 7, N 2. – P. e31303. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0031303

12. Critical roles of macrophages in the formation of intracranial aneurysm / Y. Kanematsu [et al.] // Stroke. – 2011. – Vol. 42, N 1. – P. 173–178. https://doi.org/10.1161/strokeaha.110.590976

13. Smooth muscle cells isolated from thoracic aortic aneurysms exhibit increased genomic damage, but similar tendency for apoptosis / C. Acilan [et al.] // DNA Cell Biol. – 2012. – Vol. 31, N 10. – P. 1523–1534. https://doi.org/10.1089/dna.2012.1644

14. McCormick, M. L. Role of oxidative stress in the pathogenesis of abdominal aortic aneurysms / M. L. McCormick, D. Gavrila, N. L. Weintraub // Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol. – 2007. – Vol. 27, N 3. – P. 461–469. https://doi.org/10.1161/01.atv.0000257552.94483.14

15. An International Pilot Study of an Internet-Based Platform to facilitate clinical research in epilepsy: the EpiNet project / P. Bergin [et al.] // Epilepsia. – 2012. – Vol. 53, N 10. – P. 1829–1835. https://doi.org/10.1111/j.1528-1167.2012.03636.x

16. Роль глионейронального апоптоза в патогенезе фармакорезистентной эпилепсии / Т. В. Соколова [и др.] // Нейрохирургия и неврология детского возраста. – 2015. – № 4 (46). – С. 71–84.

17. Alterations in hippocampal myelin and oligodendrocyte precursor cells during epileptogenesis / Y. Luo [et al.] // Brain Res. – 2015. – Vol. 1627. – P. 154–164. https://doi.org/10.1016/j.brainres.2015.09.027

18. Biomarkers and surrogate endpoints: Preferred definitions and conceptual framework / Jr. A. Atkinson [et al.] // Clin. Pharmacol. Therapeutics. – 2001. – Vol. 69, N 3. – P. 89–95. https://doi.org/10.1067/mcp.2001.113989

19. Henley, S. Biomarkers for Neurodegenerative Diseases / S. Henley, G. P. Bates, S. Tabrizi // Curr. Opin. Neurol. – 2005. – Vol. 18, N 6. – P. 698–705. https://doi.org/10.1097/01.wco.0000186842.51129.cb

20. Гринхальх, Т. Основы доказательной медицины : пер. с анг. / Т. Гринхальх ; под ред. И. Н. Денисова, К. И. Сайткулова. – 3-е изд. – М. : ГЭОТАР-Медиа, 2008. – 282 с.

21. Камышников, В. С. Справочник по клинико-биохимическим исследованиям и лабораторной диагностике / В. С. Камышников. – 2-е изд., перераб. и доп. – М. : МЕДпресс-информ, 2004. – 911 с.

22. Костюк, В. А. Определение продуктов перекисного окисления липидов с помощью тиобарбитуровой кислоты в анаэробных условиях / В. А. Костюк, А. И. Потапович // Вопр. мед. химии. – 1987.– Т. 33, № 3. – С. 115–118.

23. Костюк, В. А. Простой и чувствительный метод определения активности супероксиддисмутазы, основанный на реакции окисления кверцетина / В. А. Костюк, А. И. Потапович, Ж. В. Ковалева // Вопр. мед. химии. – 1990. – Т. 36, № 2. – С. 88–91.

24. Метод определения активности каталазы / М. А. Королюк [и др.] // Лаб. дело. – 1988. – № 1. – С. 16–19.

25. Савицкий, И. В. Эндотелиальные дисфункции при посттравматической эпилепсии / И. В. Савицкий, А. А. Миронов, И. В. Мястковская // J. Education, Health and Sport. – 2016. – Vol. 6, N 6. – P. 245–252.

26. Antagonism of peripheral inflammation reduces the severity of status epilepticus / N. Marchi [et al.] // Neurobiol Dis. – 2009. – Vol. 33, N 2. – P. 171–181. https://doi.org/10.1016/j.nbd.2008.10.002

27. Vezzani, A. The role of cytokines in the pathophysiology of epilepsy / A. Vezzani, S. Balosso, T. Ravizza // Brain, Behav. Immun. – 2008. – Vol. 22, N 6. – P. 797–803. https://doi.org/10.1016/j.bbi.2008.03.009

28. Oby, E. The blood-brain barrier and epilepsy / E. Oby, D. Janigro // Epilepsia. – 2006. – Vol. 47, N 11. – P. 1761–1774. https://doi.org/10.1111/j.1528-1167.2006.00817.x

29. Кузнецова, Л. В. Некоторые нейроиммунные механизмы в патогенезе эпилепсии / Л. В. Кузнецова, Л. А. Ветрилэ, М. Н. Карпова // Патогенез. – 2014. – Т. 12, № 2. – С. 11–19.

30. Гусев, Е. И. Эпилепсия и дизрегуляционная система / Е. И. Гусев, А. Б. Гехт // Дизрегуляционная патология нервной системы. – М., 2009. – С. 196–214.

31. Карлов, В. А. Эпилепсия у детей и взрослых женщин и мужчин : руководство для врачей / В. А. Карлов.– М. : Медицина, 2010. – 717 с.

References

1. Litovchenko T. A., Florikjan V. A. Epilepsy and epileptic seizures after neurosurgical operations. *Ukraïns'kii visnik psikhonevrologiï* [Ukrainian herald of psychoneurology], 2014, vol. 22, no. 3, pp. 139–145 (in Russian).

2. Sena J. C., Reynier Y., Alliez B. Unruptured intracranial aneurysm presenting with epileptic seizure. *Arquivos de neuro-psiquiatria*, 2003, vol. 61, no. 3A, pp. 663–667. https://doi.org/10.1590/s0004-282x2003000400026

3. Baeesa S. S., Dang T., Keene D. L., Ventureyra E. C. G. Unusual association of intractable temporal lobe seizures and intracranial aneurysms in an adolescent: is it a coincidence? *Pediatric Neurosurgery*, 1998, vol. 28, no. 4, pp. 198–203. https://doi.org/10.1159/000028650

4. Kamali A. W., Cockerell O. C., ButlarP. Aneurysms and epilepsy: an increasingly recognized cause. *Seizure*, 2004, no. 13, no. 1, pp. 40–44. https://doi.org/10.1016/s1059-1311(03)00075-x

5. Choi K.-S., Chun H.-J., Yi H.-J., Ko Y., Kim Y.-S., Kim J.-M. Seizures and epilepsy following aneurysmal subarachnoid hemorrhage: incidence and risk factors. *Journal of Korean Neurosurgical Society*, 2009, vol. 46, no. 2, pp. 93–98. https://doi.org/10.3340/jkns.2009.46.2.93

6. Chang S.-J., Yu B.-C. Mitochondrial matters of the brain: mitochondrial dysfunction and oxidative status in epilepsy. *Journalof Bioenergetics and Biomembranes*, 2010, vol. 42, no. 6, pp. 457–459. https://doi.org/10.1007/s10863-010-9317-4

7. Zsurka G., Kunz W. S. Mitochondrial dysfunction in neurological disorders with epileptic phenotypes. *Journal of Bioenergetics and Biomembranes*, 2010, vol. 42, no. 6, pp. 443–448. https://doi.org/10.1007/s10863-010-9314-7

8. Frantseva M. V., Velazquez J. L. P., Hwang P. A., Carlen P. L. Free radical production correlates with cell death in an *in vitro* model of epilepsy. *European Journal of Neuroscience*, 2000, vol. 12, no. 4, pp. 1431–1439. https://doi.org/10.1046/j.1460-9568.2000.00016.x

9. Frantseva M. V., Velazquez J. L., Tsoraklidis G., Mendonca A. J., Adamchik Y., Mills L. R., Carlen P. L., Burnham M. W. Oxidative stress is involved in seizure-induced neurodegeneration in the kindling model of epilepsy. *Neuroscience*, 2000, vol. 97, no. 3, pp. 431–435. https://doi.org/10.1016/s0306-4522(00)00041-5

10. Starke R. M., Chalouhi N., Ali M. S., Jabbour P. M., Tjoumakaris S. I., Gonzalez L. F., Rosenwasser R. H., Koch W. J., Dumont A. S. The role of oxidative stress in cerebral aneurysm formation and rupture. *Current Neurovascular Research*, 2013, vol. 10, no. 3, pp. 247–255. https://doi.org/10.2174/15672026113109990003

11. Juric V., Chen C. C., Lau L. F. TNFα-induced apoptosis enabled by CCN1/CYR61: pathways of reactive oxygen species generation and cytochrome c release. *PLoS ONE*, 2012, vol. 7, no. 2, p. e31303. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0031303

12. Kanematsu Y., Kanematsu M., Kurihara C., Tada Y., Tsou T.-L., van Rooijen N., Lawton M. T., Young W. L., Liang E. I., Nuki Y., Hashimoto T. Critical roles of macrophages in the formation of intracranial aneurysm. *Stroke*, 2011, vol. 42, no. 1, pp. 173–178. https://doi.org/10.1161/strokeaha.110.590976

13. Acilan C., Serhatli M., Kacar O., Adiguzel Z., Tuncer A., Hayran M., Baysal K. Smooth muscle cells isolated from thoracic aortic aneurysms exhibit increased genomic damage, but similar tendency for apoptosis. *DNA and Cell Biology*, 2012, vol. 31, no. 10, pp. 1523–1534. https://doi.org/10.1089/dna.2012.1644

14. McCormick M. L., Gavrila D., Weintraub N. L. Role of oxidative stress in the pathogenesis of abdominal aortic aneurysms. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 2007, vol. 27, no. 3, pp. 461–469. https://doi.org/10.1161/01.atv.0000257552.94483.14

15. Bergin P., Sadleir L., Legros B., Mogal Z., Tripathi M., Dang N. [et al.]. An international pilot study of an internet-based platform to facilitate clinical research in epilepsy: the EpiNet project. *Epilepsia*, 2012, vol. 53, no. 10, pp. 1829–1835. https://doi.org/10.1111/j.1528-1167.2012.03636.x

16. Sokolova T. V., Zabrodskaya Yu. M., Bazhanova E. D., Kazatskaya E. V. The role of glioneuronal apoptosis in the pathogenesis of pharmacoresistant epilepsy. *Neirokhirurgiya i nevrologiya detskogo vozrasta* [Neurosurgery and neurology of childhood], 2015, no. 4 (46), pp. 71–84 (in Russian).

17. Luo Y., Hu O., Zhang Q., Hong S., Tang X., Cheng L., JiangL. Alterations in hippocampal myelin and oligodendrocyte precursor cells during epileptogenesis. *Brain Research*, 2015, vol. 1627, pp. 154–164. https://doi.org/10.1016/j.brainres.2015.09.027

18. Atkinson A. J., Colburn W. A., DeGruttola V. G., DeMets D. L., Downing G. J., Hoth D. F., Zeger S. L. Biomarkers and surrogate endpoints: Preferred definitions and conceptual framework. *Clinical Pharmacology and Therapeutics*, 2001, vol. 69, no. 3, pp. 89–95. https://doi.org/10.1067/mcp.2001.113989

19. Henley S., Bates G. P., Tabrizi S. Biomarkers for neurodegenerative diseases. *Current Opinion in Neurology*, 2005, vol. 18, no. 6, pp. 698–705. https://doi.org/10.1097/01.wco.0000186842.51129.cb

20. Greenhalgh T. *How to Read a Paper: The Basics of Evidence-Based Medicine. 3rd ed.* Malden, Blackwell Publ., 2006. 248 p. (Russ. ed.: Grinkhal'kh T. *Osnovy dokazatel'noi meditsiny. 3-e izdanie*. Moscow, GEOTAR-Media Publ., 2008. 282 p.).

21. Kamyshnikov V. S. *Handbook of clinical and biochemical studies and laboratory diagnosis. 2nd ed.* Moscow, MEDpress-inform Publ., 2004. 911 p. (in Russian).

22. Kostyuk V. A., Potapovich A. I. Determination of lipid peroxidation products using thiobarbituric acid in anaerobic conditions. *Voprosy meditsinskoi khimii* [Problems of medical chemistry], 1987, vol. 33, no. 3, pp. 115–118 (in Russian).

23. Kostyuk V. A., Potapovich A. I., Kovaleva Zh. V. A simple and sensitive method for determining the activity of superoxide dismutase, based on the reaction of oxidation of quercetin. *Voprosy meditsinskoi khimii* [Problems of medical chemistry], 1990, vol. 36, no. 2, pp. 88–91 (in Russian).

24. Korolyuk M. A., Ivanova L. K., Maiorova I. G., Tokareva V. A. The method for determining the activity of catalase. *Laboratornoe delo* [Laboratory case], 1988, no. 1, pp. 6–19 (in Russian).

25. Savitskii I. V., Mironov A. A., MyastkovskayaI. V. Endothelial dysfunction in post-traumatic epilepsy. *Journal of Education, Health and Sport*, 2016, vol. 6, no. 6, pp. 245–252 (in Russian).

26. Marchi N., Fan Q., Ghosh C., Fazio V., Bertolini F., Betto G. [et al.]. Antagonism of peripheral inflammation reduces the severity of status epilepticus. *Neurobiology of Disease*, 2009, vol. 33, no. 2, pp. 171–181. https://doi.org/10.1016/j.nbd.2008.10.002

27. Vezzani A., Balosso S., Ravizza T. The role of cytokines in the pathophysiology of epilepsy. *Brain, Behavior, and Immunity*, 2008, vol. 22, no. 6, pp. 797–803. https://doi.org/10.1016/j.bbi.2008.03.009

28. Oby E., Janigro D. The blood-brain barrier and epilepsy. *Epilepsia*, 2006, vol. 47, no. 11, pp. 1761–1774. https://doi.org/10.1111/j.1528-1167.2006.00817.x

29. Kuznetsova L. V., Vetrile L. A., Karpova M. N. Some neuroimmune mechanisms in the pathogenesis of epilepsy. *Patogenez* [Patogenes], 2014, vol. 12, no. 2, pp. 11–19 (in Russian).

30. Gusev E. I., Gekht A. B. Epilepsy and disregulation system. *Dysregulatory pathology of the nervous system*. Moscow, 2009, pp. 196–214 (in Russian).

31. Karlov V. A. *Epilepsy in children and adult women and men: a guide for doctors*. Moscow, Meditsina Publ., 2010. 717 p. (in Russian).

Информация об авторах

Нечипуренко Наталия Ивановна – д-р мед. наук, профессор, заведующий лабораторией. Республиканский научно-практический центр неврологии и нейрохирургии (ул. Ф. Скорины, 24, 220114, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: prof_NIN@mail.ru

Сидорович Рышард Ромуальдович – д-р мед. наук, доцент, директор. Республиканский научно-практический центр неврологии и нейрохирургии (ул. Ф. Скорины, 24, 220114, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: ninh@mail.ru

Пашковская Ирина Дмитриевна – канд. биол. наук, вед. науч. сотрудник. Республиканский научно-практический центр неврологии и нейрохирургии (ул. Ф. Скорины, 24, 220114, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: irenapass@mail.ru

Степанова Юлия Игоревна – канд. мед. наук, доцент. Республиканский научно-практический центр неврологии и нейрохирургии (ул. Ф. Скорины, 24, 220114, г. Минск, Республика Беларусь).

Змачинская Ольга Леонидовна – науч. сотрудник. Республиканский научно-практический центр неврологии и нейрохирургии (ул. Ф. Скорины, 24, 220114, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: doctor.olga@tut.by

Прокопенко Татьяна Анатольевна – мл. науч. сотрудник. Республиканский научно-практический центр неврологии и нейрохирургии (ул. Ф. Скорины, 24, 220114, г. Минск, Республика Беларусь).

Information about the authors

Natalia I. Nechipurenko – D. Sc. (Med.), Professor, Head of the Laboratory. Republican Research and Clinical Center of Neurology and Neurosurgery (24, F. Skorina Str., 220114, Minsk, Republic of Belarus.) E-mail: prof_NIN@mail.ru

Ryszard R. Sidorovich – D. Sc. (Med.), Assistant Professor, Director. Republican Research and Clinical Center of Neurology and Neurosurgery (24, F. Skorina Str., 220114, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: ninh@mail.ru

Irina D. Pashkovskaya – Ph. D. (Biol.), Leading researcher. Republican Research and Clinical Center of Neurology and Neurosurgery (24, F. Skorina Str., 220114, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: irenapass@mail.ru

Yulia I. Stepanova – Ph. D. (Med.), Assistant Professor. Republican Research and Clinical Center of Neurology and Neurosurgery (24, F. Skorina Str., 220114, Minsk, Republic of Belarus).

Olga L. Zmachynskaya – Researcher. Republican Research and Clinical Center of Neurology and Neurosurgery (F. Skoryna Str., 24, 220114, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: doctor.olga@tut.by

Tatiana A. Prokopenko – Junior researcher. Republican Research and Clinical Center of Neurology and Neurosurgery (24, F. Skorina Str., 220114, Minsk, Republic of Belarus).

ISSN 1814-6023 (Print)
ISSN 2524-2350 (Online)

УДК 613.294:612
https://doi.org/10.29235/1814-6023-2019-16-3-332-338

Поступила в редакцию 21.11.2018
Received 21.11.2018

А. Э. Пыж, А. В. Чуприна, Р. Н. Ясюченя

Институт физиологии НАН Беларуси, Минск, Республика Беларусь

ВЛИЯНИЕ ПИЩЕВЫХ ДОБАВОК НА ВЫЖИВАЕМОСТЬ ШТАММОВ КИШЕЧНОЙ ПАЛОЧКИ, ЭНТЕРОКОККОВ, БИФИДОБАКТЕРИЙ И ЛАКТОБАЦИЛЛ

Аннотация. Изложены результаты оценки выживаемости пробиотических микроорганизмов на средах, содержащих глутамат натрия, тартразин и бензоат натрия в диапазоне концентраций 10^{-4}–10^{-7} М *in vitro*. Показано, что влияние глутамата натрия, бензоата натрия и тартразина проявляется как сильным угнетением жизнеспособности культур, так и стимуляцией их роста. У штамма *Lactobacillus acidophilus* с тартразином 10^{-4} и 10^{-5} М выживаемость составила от 10,5 до 45,62 % в сравнении с контролем. Выживаемость штамма *Enterococcus faecium SF 68* с пищевыми добавками 10^{-5} и 10^{-6} М равнялась 15,29 и 35,6 % соответственно, штамма *Escherichia coli M 17* – в пределах от 49,1 до 58,29 % к контролю.

Ключевые слова: тартразин, глутамат натрия, бензоат натрия, пробиотические бактерии, рост микроорганизмов

Для цитирования: Пыж, А. Э. Влияние пищевых добавок на выживаемость штаммов кишечной палочки, энтерококков, бифидобактерий и лактобацилл / А. Э. Пыж, А. В. Чуприна, Р. Н. Ясюченя // Вес. Нац. акад. навук Беларусі. Сер. мед. навук. – 2019. – Т. 16, № 3. – С. 332–338. https://doi.org/10.29235/1814-6023-2019-16-3-332-338

A. E. Pyzh, A. V. Chuprina, R. N. Yasyuchenya

Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus

EFFECTS OF FOOD ADDITIVES ON SURVIVAL OF STRAINS *ESCHERICHIA*, *ENTEROCOCCUS*, *BIFIDOBACTERIA* AND *LACTOBACILLUS*

Abstract. The results of assessing the survival rate of probiotic microorganisms on media containing sodium glutamate, tartrazine and sodium benzoate in the concentration range of 10^{-4}–10^{-7} M *in vitro* are presented. It is shown that the effect of glutamate, sodium benzoate and tartrazine on different strains manifests itself both in a sharp inhibition of the viability of cultures and a stimulation of their growth. In the *Lactobacillus acidophilus* with tartrazine of 10^{-4} M and 10^{-5} M, the survival rate of the strain ranged from 10.5 to 45.62 % as compared to the control. The survival rate of the *Enterococcus faecium SF 68* strain with nutritional supplements of 10^{-5} M and 10^{-6} M was 15.29 and 35.6 %, respectively, and *Escherichia coli M 17* strain ranged from 49.1 to 58.29 % as compared to the control.

Keywords: tartrazine, monosodium glutamate, sodium benzoate, probiotic bacteria, microorganism growth

For citation: Pyzh A. E., Chuprina A. V., Yasyuchenya R. N. Effects of food additives on survival of strains *Escherichia*, *Enterococcus*, *Bifidobacteria* and *Lactobacillus*. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seriya meditsinskikh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2019, vol. 16, no. 3, pp. 332–338 (in Russian). https://doi.org/10.29235/1814-6023-2019-16-3-332-338

Введение. Наличие в настоящее время широчайшего ассортимента пищевых добавок, включающего свыше 2500 наименований, является следствием индустриализации общества и развития технологий пищевой промышленности. Любая пищевая добавка разрешается к применению после изучения ее токсичности и безопасности для здоровья человека.

Несмотря на это, имеющихся знаний о последствиях длительного поступления в организм подобных химических веществ, их комбинированном эффекте и путях метаболизма явно недостаточно. В частности, получены доказательства негативного влияния красителей, усилителей вкуса, консервантов на желудочно-кишечный тракт, сердечно-сосудистую систему, кишечные микроорганизмы. Показано, что пищевые красители (тартразин, понсо, кармуазин, желтый «солнечный закат») метаболизируются рядом энтеробактерий и лактобацил с образованием канцерогенных ароматических соединений, однако механизм деградации таких ксенобиотиков доподд-

© Пыж А. Э., Чуприна А. В., Ясюченя Р. Н., 2019

линно не известен [1]. Тартразин имеет бактериостатическую активность на пробиотические штаммы [2], обладает цитотоксическими свойствами в отношении нормофлоры полости рта [3].

На модельных системах показано, что некоторые пищевые добавки, длительно поступающие в пищеварительный тракт крысы, увеличивают влияние симпатической нервной системы на сердце, вызывают изменение активности ряда ферментов, снижение концентраций гемоглобина, восстановленного глутатиона, числа эритроцитов [2, 4].

Принято считать, что индивидуальная реакция организма может варьироваться в зависимости от дозы, возраста, пола, рациона питания, генетических факторов и длительности воздействия низких доз [5, 6].

Немаловажен и тот факт, что различные классы пищевых добавок входят в рецептуры продуктов повседневного спроса, как правило, целыми комплексами, что подразумевает их хроническое поступление в пищеварительный тракт, возможность химических превращений, кумулятивный эффект, длительное действие на кишечный микробиоценоз. В результате возникает закономерный вопрос о прогнозировании их сочетанного влияния. Более того, сведения литературных источников, посвященных вопросам особенностей действия пищевых добавок на различные системы организма, не систематизированы, фрагментарны и разобщены, упоминаний о комплексном их воздействии практически не встречается. Единичные исследования, нацеленные на прояснение возможного сочетанного действия широко используемых добавок на микрофлору кишечника как неотъемлемую часть пищеварительной системы, выявили неблагоприятное влияние тартразина, глутамата и бензоата натрия на микроорганизмы, что выражалось угнетением бифидо- и лактобактерий, избыточностью кандид [7].

Таким образом, учитывая совокупность вышеуказанных обстоятельств, возникла настоятельная необходимость изучить комплексное действие пищевых добавок на культурах микроорганизмов.

Цель работы – установить влияние тартразина, бензоата и глутамата натрия на выживаемость кишечных бактерий *in vitro*.

Материалы и методы исследования. Поскольку штаммы микроорганизмов имеют решающее значение в успешности эксперимента, на наш взгляд, наиболее доступными и подходящими в качестве объекта исследований являются живые культуры микроорганизмов известных эубиотиков.

Исследования проводили на 4 штаммах: *Escherichia coli M 17*, *Bifidobacterium infantis*, *Enterococcus faecium SF 68* и *Lactobacillus acidophilus*, полученных из коммерческих препаратов «Биофлор» (НПУП «Диалек», Беларусь) и «Линекс» (Sandoz, Словения). Выделение штаммов осуществляли микробиологическим методом посредством посева исходных препаратов на дифференциальные диагностические среды. Культуры лактобацилл, энтерококков и эшерихий поддерживали на плотных питательных средах, бифидобактерии хранили на тиогликолевой среде при 4 °С, для приготовления посевного материала использовали суточную культуру микроорганизма.

Штаммы культивировали на питательных средах, содержащих исследуемые вещества, с последующим количественным учетом жизнеспособных бактерий (выживаемость, % к контролю), как описано в работе [8]. Содержание веществ соответствовало физиологическим концентрациям для микроорганизмов – 10^{-4}–10^{-7} М/л. Водные растворы добавок подвергали стерилизации путем фильтрования и вносили в жидкие питательные среды перед культивированием. Посевная доза инокулюма составила 10^6 микробных тел/мл. По истечении сроков инкубации проводили видовую идентификацию и количественный подсчет колониеобразующих единиц (КОЕ) с оценкой их морфологических (микроскопия) и биохимических свойств. Жизнеспособность бактерий оценивали в стационарной фазе роста (24–48 ч) согласно указаниям, приведенным в работе [9].

В экспериментах использовали глутамат натрия (Е 621, Sigma Chemical, США), бензоат натрия (Е 211, «Пять океанов», Беларусь), тартразин (Е 102, Roha Dyechem, Индия), агар Эндо, энтерококкагар, тиогликолевую среду, среду № 3 (для обогащения энтеробактерий), бифидум-среду (ФБУН ГНЦ ПМБ, Оболенск, Россия).

Статистическую обработку данных осуществляли методами непараметрической статистики, используя программу Statistica 6.0. Нормальность распределения показателей проверяли с помощью теста Шапиро–Уилка. Для оценки достоверности отличий использовали критерий Манна–Уитни. Данные представлены в виде средней величины и стандартной ошибки средней (M ± m). Критический уровень значимости (p) при проверке гипотез принимали равным 0,05.

Результаты и их обсуждение. Результаты показали, что одновременное присутствие в среде культивирования глутамата натрия, бензоата натрия и тартразина затрагивает процессы роста микроорганизмов. Выявлено существенное подавление бифидобактерий в зависимости от количества веществ: в наивысшей концентрации (10^{-4} М) колониеобразующая способность у штамма *Bifidobacterium infantis* снижается на три порядка – до 10^4 КОЕ (контроль – 10^7 КОЕ) ($p < 0,05$). При росте на среде, содержащей комплексную добавку (10^{-5}–10^{-6} М), бифидобактерии уступали уровню контроля в 10 раз, к наименьшему количеству субстанции штамм был индифферентен (рис. 1).

Угнетение анаэробов может быть обусловлено как действием консерванта, так и избытком глутамата натрия в ростовой среде, поскольку с падением концентрации вещества подавляющий эффект либо ослабевает, либо не проявляется вовсе. Культивирование бифидобактерий с глутаматом натрия вызывает изменение морфологии клеток и подавление их роста [10], что свидетельствует о роли последнего в регуляции физиологических процессов микроорганизмов.

Пищевые азокрасители, в том числе тартразин, подвергаются редукции ферментными системами кишечных анаэробов, преимущественно клостридий, фузобактерий, бактероидов, лакто- и бифидобактерий (*Bifidobacterium longum*, *B. adolescentis*) [11], тогда как штаммы *Bifidobacterium infantis (C 20-21)* к бактериальной деградации тартразина не способны [12]. Не получено какого-либо подтверждения данных, указывающих на способность тартразина подавлять рост этих бактерий.

В отличие от бифидобактерий, лактобациллы в заданных условиях пищевыми добавками не подавлялись. При росте на тиогликолевой среде с комплексной добавкой 10^{-4}–10^{-6} М штамм *Lactobacillus acidophilus* наращивал биомассу на 21,86 % ($p < 0,05$) в сравнении с контролем, в среднем на чашке вырастало 825,5 ± 8,15 КОЕ, в минимальной концентрации – до 10^3 КОЕ (контроль – 677,3 ± 2,25 КОЕ (не показано)).

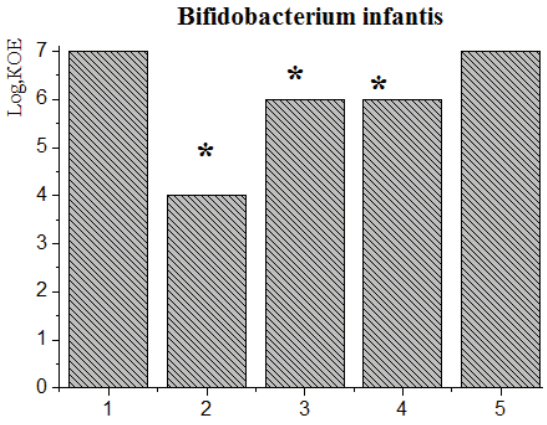


Рис. 1. Влияние тартразина, бензоата натрия и глутамата натрия на колониеобразующую способность штамма *Bifidobacterium infantis in vitro* (по оси абсцисс: *1* – контроль, без добавок; *2–5* – тартразин, глутамат Na, бензоат Na, водный раствор (*2* – 10^{-4} М, *3* – 10^{-5} М, *4* – 10^{-6} М, *5* – 10^{-7} М); по оси ординат: бифидобактерии, Log, КОЕ. * – достоверные различия с контролем, $p < 0,05$

Fig. 1. Effect of tartrazine, benzoate and glutamate Na on the colony-forming ability of the strain bifidobacterium infantis *in vitro* (on the abscissa: *1* – control, without nutritional supplements; *2* – tartrazine, monosodium glutamate, Na benzoate, aqueous solution of 10^{-4} M; *3* – 10^{-5} M; *4* – 10^{-6} M; *5* – 10^{-7} M; on the *y*-axis: bifidobacteria, Log, CFU). * – significant differences with the control, $p < 0.05$

Наблюдаемый эффект усиления роста лактобактерий, инициированный веществами, не являющимися пребиотиками, особенно консервантом, неоднозначен. Анализ сведений литературных источников выявил следующее. Глутамат натрия в среде культивирования повышает выживаемость штаммов *Lactobacillus rhamnosus GG* и *L. rhamnosus E 800* при хранении и лиофилизации [13].

Добавление глутаминовой кислоты в питательную среду при pH 6,0 пролонгирует lag-фазу роста штамма *Lactobacillus arabinosus*, тогда как на средах с pH 7,0 деление клеток полностью прекращается. Описана стимуляция роста бактерий, грибов и простейших аминокислотой глутамином [14].

Тартразин и другие азокрасители, поступающие алиментарным путем, разлагаются в редуктивных реакциях микроорганизмами кишечника и ферментами печени. Принято считать, что ведущая роль в метаболизме азокрасителей принадлежит ферментным системам азоредуктаз кишечных

анаэробов [15]. Для лактобацилл характерна способность к деградации молекул тартразина и кармуазина с образованием токсичных метаболитов, однако в целом этот вопрос мало изучен [1]. Принимая во внимание эти обстоятельства, нами предпринята попытка оценить выживаемость *Lactobacillus acidophilus* на питательных средах, содержащих тартразин и глутамат натрия в указанных выше концентрациях.

Оказалось, что краситель существенно угнетает лактобактерии. Культивирование на питательной среде с тартразином в концентрации 10^{-4} М вызывает гибель большинства клеток (выживаемость не превышала 10,5 %). При росте *Lactobacillus acidophilus* на среде с тартразином в концентрации 10^{-5} М выживаемость штамма возросла до 45,62 %, а в минимальной концентрации *L. acidophilus* наращивал биомассу до 10^4 КОЕ (рис. 2). При культивировании лактобацилл с тартразином появляются бесцветные прозрачные бактерии уменьшенного размера, не встречающиеся в контроле и не характерные для типового вида. Замена красителя в среде культивирования на глутамат натрия на жизнедеятельности лактобацилл не отразилась.

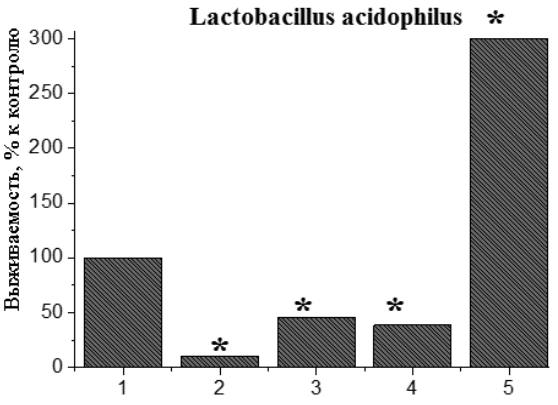


Рис. 2. Выживаемость штамма *Lactobacillus acidophilus* при росте на тиогликолевой среде с тартразином (по оси абсцисс: *1* – контроль, без добавок; *2–5* – тартразин, водный раствор (*2* – 10^{-4} М, *3* – 10^{-5} М, *4* – 10^{-6} М, *5* – 10^{-7} М); по оси ординат: выживаемость, % к контролю). * – достоверные различия с контролем, $p < 0{,}05$

Fig. 2. Survival of the strain *Lactobacillus acidophilus* with the growth on the thioglycolic medium with tartrazine (on the abscissa: *1* – control, without supplements; *2–5* – tartrazine, aqueous solution (*2*– 10^{-4} M; *3* – 10^{-5} M; *4* – 10^{-6} M; *5* – 10^{-7} M); on the *Y*-axis: survival, % as compared to the control). * – significant differences with the control, $p < 0.05$

Таким образом, особенности действия тартразина на *L. acidophilus* заключаются в разнонаправленных эффектах на рост бактерий (подавление, стимуляция), затрагивают биосинтетические процессы, ответственные за их пигментацию и размеры. Сведения о роли бензоата натрия в жизнедеятельности лактобактерий в рассматриваемом нами контексте отсутствуют.

Проведенные нами исследования выявили неблагоприятное влияние пищевых добавок на аэробные бактерии. Культивирование стрептококков и энтеробактерий на средах, содержащих консервант, усилитель вкуса и краситель, влечет изменение процессов их роста. Сочетанное воздействие тартразина, глутамата и бензоата натрия в концентрации 10^{-4} М приводит к практическому полному подавлению кишечных стрептококков (выживаемость бактерий не превышает 3 %). Рост штамма *Enterococcus faecium SF 68* на тиогликолевой среде, содержащей субстанции в концентрациях 10^{-5} и 10^{-6} М, демонстрировал малую выживаемость в пределах 15,29 % (14,8 ± 1,6 КОЕ) и 35,6 % (27,0 ± 1,3 КОЕ) соответственно ($p < 0{,}05$), тогда как в концентрации 10^{-7} М – двукратный рост (176 ± 2,3 КОЕ) (контроль – 87,5 ± 1,2 КОЕ) (рис. 3, *а*).

В отличие от энтерококков, энтеробактерии менее чувствительны к пищевым добавкам, поскольку их выживаемость находилась в пределах от 49,1 до 58,29 % (рис. 3, *b*). Угнетение эшерихий, по-видимому, обусловлено действием консерванта, поскольку глутамат натрия и тартразин в дозах до 200 мг/мл на рост *E. coli* не влияют [16]. С другой стороны, нами установлено, что при сочетанном поступлении в организм крыс глутамата натрия, тартразина и бензоата натрия вызывают рост *E. coli* от 34,09 до 44,55 %, дрожжеподобных грибов – в 1,23 раза в сравнении с контролем (цит. по [2]).

Известно, что кишечные стрептококки способны разрушать азогруппу N=N в анаэробных условиях. Показано, что тартразин полностью разлагается штаммом *Enterococcus faecalis* на сложных средах типа BHIS вне зависимости от наличия кислорода. Более того, время генерации *E. faecalis* при росте с тартразином 200 мкМ насчитывает 40,1 ± 0,6 мин, в концентрации 20 мкМ – 48,7 ± 1,1 мин (в контроле – 56,3 ± 4,7 мин), что свидетельствует об усилении размножения клеток [17]. Последнее отчасти объясняет наблюдаемый эффект накопления лактобацилл и энтерококков при низких концентрациях красителя в среде. Для обстоятельного анализа таких

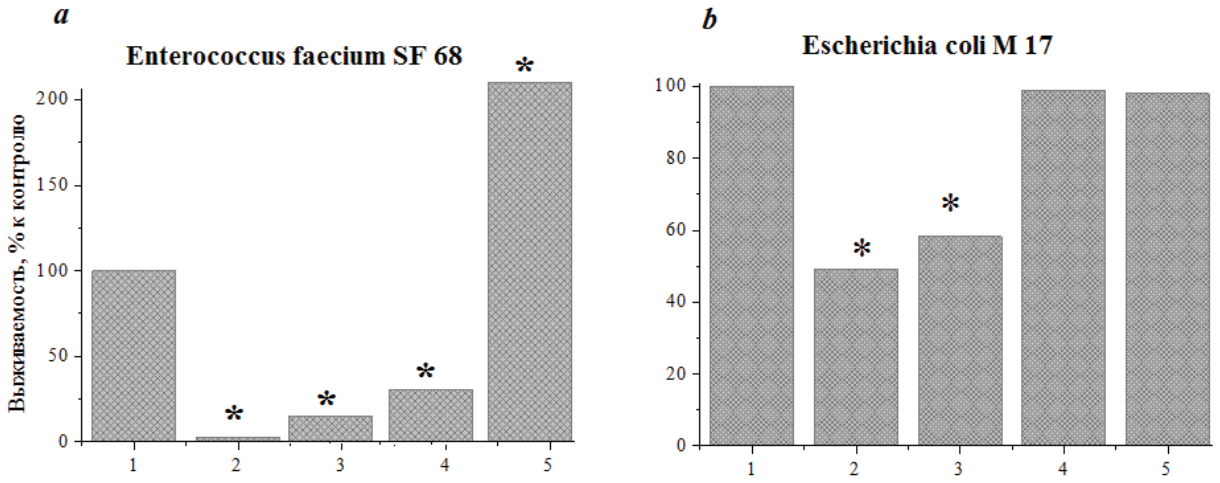


Рис. 3. Влияние пищевых добавок на выживаемость штаммов *Enterococcus faecium SF 68* (*a*) и *Escherichia coli M 17* (*b*) *in vitro* (по оси абсцисс: *1* – контроль, без добавок; *2–5* – тартразин, глутамат натрия, бензоат натрия, водный раствор (*2* – 10^{-4} М, *3* – 10^{-5} М, *4* – 10^{-6} М, *5* – 10^{-7} М); по оси ординат: выживаемость, % к контролю). * – достоверные различия с контролем, $p < 0{,}05$

Fig. 3. The effect of nutritional supplements on the survival of strains of *Enterococcus faecium SF 68* (*a*) and *Escherichia coli M 17* (*b*) *in vitro* (on the *X*-axis: *1* – control, without additives; *2 –5* – tartrazine, monosodium glutamate, Na benzoate, aqueous solution (*2* – 10^{-4} M; *3* – 10^{-5} M; *4* – 10^{-6} M; *5* – 10^{-7} M); *Y*-axis: survival, % of control). * – significant differences with the control, $p < 0.05$

процессов требуется культивирование микроорганизмов с определением кинетических параметров роста и спектра метаболитов.

Заключение. Выявлено, что сочетанное влияние глутамата натрия, бензоата натрия и тартразина на пробиотические микроорганизмы проявляется как резким угнетением жизнеспособности культур, так и стимуляцией их роста. Пищевые добавки оказывают существенное регуляторное воздействие на пролиферацию бифидобактерий, лактобацилл, кишечных палочек и энтерококков. Поскольку методы экспериментальной микробиологии не позволяют полностью воссоздать процессы, протекающие в среде обитания кишечных бактерий, продемонстрированные эффекты указывают на возможную реакцию микроорганизма.

Воздействие ксенобиотиков на живые системы неуклонно возрастает, при алиментарном пути поступления главной мишенью выступает пищеварительный тракт, в частности микрофлора кишечника. В этом аспекте определенный научный и практический интерес в плане прогноза последствий употребления тех или иных пищевых продуктов, т. е. их влияния на микрофлору кишечника и организм в целом, представляет понимание особенностей действия химических веществ, являющихся пищевыми добавками, на микроорганизмы.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список использованных источников

1. Shrikant, B. S. Degradation of two food colorants tartrazin and carmoizine by intestinal microorganism / B. S. Shrikant, P. Girish, P. Harshal // Int. J. Fharmacol. Biol. Sci. – 2010. – Vol. 4. – P. 23–28.

2. Лукашенко, Т. М. Анализ сочетанного влияния добавок, используемых в пищевых продуктах, на процессы регуляции физиологических функций организма у половозрелых крыс / Т. М. Лукашенко, А. Э. Пыж, Р. Н. Ясюченя // Сигнальные механизмы регуляции физиологических функций : тез. докл. XIV съезда Белорус. о-ва физиологов и III Междунар. науч. конф., Минск, 5 окт. 2017 г. / редкол. : В. В. Лысак [и др.]. – Минск, 2017. – С. 67.

3. Коваленко, Н. П. Пищевые красители как фактор влияния на микрофлору полости рта человека / Н. П. Коваленко, В. П. Полянская // Развитие АПК на основе рационального природопользования: экологический, социальный и экономический аспекты : материалы Междунар. науч.-практ. конф. (Полтава, 26 дек. 2014 г.) / Полтав. гос. аграр. акад. [и др.] ; редкол. : П. В. Писаренко [и др.]. – Полтава, 2014. – С. 34–41.

4. El-Wahab, H. M. Toxic effects of some synthetic food colorants and/or flavor additives on male rats / H. M. El-Wahab, G. S. Moram // Toxicol. Indust. Health. – 2013. – Vol. 29, N 2. – P. 224–232. https://doi.org/10.1177/0748233711433935

5. Hurtado, R. M. Reacciones adversas a alimentos y sus aditivos / R. M. Hurtado // Pediatría al día. – 1998. – Vol. 14, N 3. – P. 128–131.

6. Sandler, R. S. Diet and cancer: food additives, coffee and alcohol / R. S. Sandler // Nutr. Cancer. – 1982. – Vol. 4, N 4. – P. 273–279. https://doi.org/10.1080/01635588209513768

7. Пыж, А. Э. Роль пищевых добавок в регуляции микрофлоры кишечника / А. Э. Пыж, Э. С. Кашицкий // Новости мед.-биол. наук. – 2018. – Т. 17, № 2. – С. 17–22.

8. Пыж, А. Э. Влияние меди на рост и образование гемолизинов госпитальными штаммами *Pseudomonas aeruginosa* / А. Э. Пыж, В. Н. Никандров // Новости мед.-биол. наук. – 2009. – № 3. – С. 70–75.

9. Пектины в комплексной терапии больных с неотложной хирургической патологией МУ № 19 / А. С. Берикетов [и др.]. – М., 2003. – 22 с.

10. Свидерская, Д. С. Влияние химических пищевых добавок на микрофлору кишечника человека / Д. С. Свидерская, К. С. Клочкова // Вестн. Инновац. Евраз. ун-та. – 2014. – № 2. – С. 106–110.

11. Chung, K. T. Reduction of azo dyes by intestinal anaerobes / K. T. Chung, G. E. Fulk, M. Egan // Appl. Environ. Microbiol. – 1978. – Vol. 35, N 3. – P. 558–562.

12. Feng, J. Toxicological significance of azo dye metabolism by human intestinal microbiota / J. Feng, C. E. Cerniglia, H. Chen // Front. Biosci. – 2012. – Vol. E4, N 2. – P. 568–586. https://doi.org/10.2741/e400

13. Sunny-Roberts, E. O. The protective effect of monosodium glutamate on survival of *Lactobacillus rhamnosus* GG and *Lactobacillus rhamnosus* E-97800 (E800) strains during spray-drying and storage in trehalose-containing powders / E. O. Sunny-Roberts, D. Knorr // Inter. Dairy J. – 2009. – Vol. 19, N 4. – P. 209–214. https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2008.10.008

14. Ayengar, P. Rôles of glutamine in growth of Lactobacillus arabinosus / P. Ayengar, E. Roberts, G. B. Ramasarma // J. Biol. Chem. – 1951. – Vol. 193, N 2. – P. 781–791.

15. New considerations regarding the risk assessment on Tartrazine: an update toxicological assessment, intolerance reactions and maximum theoretical daily intake in France / M. O. Elhkim [et al.] // Regul. Toxicol. Pharmacol. – 2007. – Vol. 47, N 3. – P. 308–316. https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2006.11.004

16. Evolution of bactericidal activity of selected food additives against food borne microbial pathogens / S. A. Selim [et al.] // Biosci. Biotechnol. Res. Asia. – 2012. – Vol. 9, N 1. – P. 7–17. https://doi.org/10.13005/bbra/961

17. Punj, S. Physiological characterization of *Enterococcus faecalis* during azoreductase activity / S. Punj, G. H. John // Microb. Ecol. Health Dis. – 2008. – Vol. 20, N 2. – P. 65–73. https://doi.org/10.1080/08910600802169630

References

1. Shrikant B. S., Girish P., Harshal P. Degradation of two food colorants tartrazin and carmoizine by intestinal microorganism. *International Journal of Pharmacology and Biological Sciences*, 2010, vol. 4, pp. 23–28.

2. Lukashenko T. M., Pyzh A. E., Yasyuchenya R. N. Analysis of the combined effect of additives used in food products on the regulation of physiological functions of the body in adult rats. *Signal'nye mekhanizmy regulyatsii fiziologicheskikh funktsii: tezisy dokladov 14 s''ezda Belorusskogo obshchestva fiziologov i 3 Mezhdunarodnoi nauchnoi konferentsii (Minsk, 5 oktyabrya 2017 goda)* [Signaling mechanisms for the regulation of physiological functions: Abstracts of the 14th Congress of the Belarusian Society of Physiologists and the 3rd International scientific conference (Minsk, October 5, 2017)]. Minsk, 2017, p. 67 (in Russian).

3. Kovalenko N. P., Polyanskaya V. P. Food dyes as a factor of influence on the microflora of the human oral cavity. *Razvitie APK na osnove ratsional'nogo prirodopol'zovaniya: ekologicheskii, sotsial'nyi i ekonomicheskii aspekty: materialy Mezhdunarodnoi nauchno-prakticheskoi konferentsii (Poltava, 26 dekabrya 2014 goda)* [Development of agriculture based on environmental management: environmental, social and economic aspects: materials of the International scientific and practical conference (Poltava, December 26, 2014)]. Poltava, 2014, pp. 34–41 (in Russian).

4. El-Wahab H. M., Moram G. S. Toxic effects of some synthetic food colorants and/or flavor additives on male rats. *Toxicology and Industrial Health*, 2013, vol. 29, no. 2, pp. 224–232. https://doi.org/10.1177/0748233711433935

5. Hurtado R. M. Reacciones adversas a alimentos y sus aditivos. *Pediatría al día,* 1998, vol. 14, no. 3, pp. 128–131.

6. Sandler R. S. Diet and cancer: food additives, coffee and alcohol. *Nutrition and Cancer*, 1982, vol. 4, no. 4, pp. 273–279. https://doi.org/10.1080/01635588209513768

7. Pyzh A. E., Kashitskii E. S. The role of food additives in the regulation of intestinal microflora. *Novosti mediko-biologicheskikh nauk = News of Biomedical Sciences*, 2018, vol. 17, no. 2, pp. 17–22 (in Russian).

8. Pyzh A. E., Nikandrov V. N. The effect of copper on the growth and formation of hemolysins by hospital strains of Pseudomonas aeruginosa. *Novosti mediko-biologicheskikh nauk = News of Biomedical Sciences*, 2009, no. 3, pp. 70–75 (in Russian).

9. Beriketov A. S. *Pectins in the complex therapy of patients with emergency surgical pathology MU no. 19*. Moscow, 2003. 22 p. (in Russian).

10. Sviderskaya D. S., Klochkova K. S. The effect of chemical food additives on the human intestinal microflora. *Vestnik Innovatsionnogo Evraziiskogo universiteta* [Bulletin of the Innovative Eurasian University], 2014, no. 2, pp. 106–110 (in Russian).

11. Chung K. T., Fulk G. E., Egan M. Reduction of azo dyes by intestinal anaerobes. *Applied and Environmental Microbiology*, 1978, vol. 35, no. 3, pp. 558–562.

12. Feng J., Cerniglia C. E., Chen H. Toxicological significance of azo dye metabolism by human intestinal microbiota. *Frontiers in Bioscience*, 2012, vol. E4, no. 2, pp. 568–586. https://doi.org/10.2741/e400

13. Sunny-Roberts E. O., Knorr D. The protective effect of monosodium glutamate on survival of *Lactobacillus rhamnosus* GG and *Lactobacillus rhamnosus* E-97800 (E800) strains during spray-drying and storage in trehalose-containing powders. *International Dairy Journal*, 2009, vol. 19, no. 4, pp. 209–214. https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2008.10.008

14. Ayengar P., Roberts E., Ramasarma G. B. Rôles of glutamine in growth of Lactobacillus arabinosus. *Journal of Biological Chemistry*, 1951, vol. 193, no. 2, pp. 781–791.

15. Elhkim M. O., Héraud F., Bemrah N., Gauchard F., Lorino T., Lambré C., Frémy J. M., Poul J.-M. New considerations regarding the risk assessment on Tartrazine: an update toxicological assessment, intolerance reactions and maximum theoretical daily intake in France. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 2007, vol. 47, no. 3, pp. 308–316. https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2006.11.004

16. Selim S. A., El Alfy S. M., Abdel Aziz M. H., Mashait M. S., Warrad M. F. Evolution of bactericidal activity of selected food additives against food borne microbial pathogens. *Biosciences Biotechnology Research Asia*, 2012, vol. 9, no. 1, pp. 7–17. https://doi.org/10.13005/bbra/961

17. Punj S., John G. H. Physiological characterization of Enterococcus faecalis during azoreductase activity. *Microbial Ecology in Health and Disease*, 2008, vol. 20, no. 2, pp. 65–73. https://doi.org/10.1080/08910600802169630

Информация об авторах

Пыж Анна Эдуардовна – канд. биол. наук, ст. науч. сотрудник. Институт физиологии НАН Беларуси (ул. Академическая, 28, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: viola_25@tut.by

Чуприна Алеся Владимировна – мл. науч. сотрудник. Институт физиологии НАН Беларуси (ул. Академическая, 28, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: lesy-25.03.1995@tut.by

Ясюченя Рита Николаевна – канд. биол. наук, ст. науч. сотрудник. Институт физиологии НАН Беларуси (ул. Академическая, 28, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: rita_yasuchenia@mail.ru

Information about the authors

Anna E. Pyzh – Ph. D. (Biol.), Senior researcher. Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Belarus (28, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: viola_25@tut.by

Alesya V. Chuprina – Junior researcher. Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Belarus (28, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: lesy-25.03.1995@tut.by

Rita N. Yasyuchenya – Ph. D. (Biol.), Senior researcher. Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Belarus (28, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: rita_yasuchenia@mail.ru

ISSN 1814-6023 (Print)
ISSN 2524-2350 (Online)

УДК 616.988:578-074/078(083/133)
https://doi.org/10.29235/1814-6023-2019-16-3-339-348

Поступила в редакцию 04.10.2018
Received 04.10.2018

Н. В. Поклонская[1], Т. В. Амвросьева[1], Ю. А. Шилова[1], Е. П. Кишкурно[2]

[1]Республиканский научно-практический центр эпидемиологии и микробиологии, Минск, Республика Беларусь
[2]Белорусская медицинская академия последипломного образования, Минск, Республика Беларусь

МОЛЕКУЛЯРНАЯ ЭПИДЕМИОЛОГИЯ ЭНТЕРОВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ В РЕСПУБЛИКЕ БЕЛАРУСЬ В 2016–2017 гг.

Аннотация. Энтеровирусы – широко распространенные патогены, которые характеризуется высоким уровнем генетического разнообразия, выражающегося в многообразии клинических форм энтеровирусной инфекции. В работе проанализированы результаты молекулярно-эпидемиологического мониторинга разных клинических форм энтеровирусной инфекции в 2016–2017 гг.

В результате проведенных исследований установлено, что в 2016 г. среди циркулировавших энтеровирусов преобладали вирусы ECHO (58 %), в том числе ECHO 9 (26 %), ECHO 6 (14 %), ECHO 16 (10 %). Преобладающей клинической формой, вызванной этими вирусами, был серозный менингит. В 2017 г. доминировали вирусы Коксаки (68 %), в том числе Коксаки серотипов B5 (31 %), B1, B4 и A6 (по 9 % каждого серотипа). Вирусы Коксаки достоверно чаще выявлялись у пациентов с везикулярным фарингитом и неуточненной энтеровирусной инфекцией. Результаты молекулярно-эпидемиологического анализа свидетельствовали о том, что преобладание вирусов ECHO в 2016 г. и Коксаки B в 2017 г. было обусловлено появлением значительного количества новых геновариантов этих вирусов.

Ключевые слова: энтеровирус, молекулярная эпидемиология, энтеровирусная инфекция, серотип, геновариант

Для цитирования: Молекулярная эпидемиология энтеровирусной инфекции в Республике Беларусь в 2016–2017 гг. / Н. В. Поклонская [и др.] // Вес. Нац. акад. навук Беларусі. Сер. мед. навук. – 2019. – Т. 16, № 3. – С. 339–348. https://doi.org/10.29235/1814-6023-2019-16-3-339-348

N. V. Paklonskaya[1], T. V. Amvrosieva[1], Y. A. Shilova[1], E. P. Kishkurno[2]

[1]Republican Research and Practical Center for Epidemiology and Microbiology, Minsk, Belarus
[2]Belarusian Medical Academy of Postgraduate Education, Minsk, Belarus

MOLECULAR EPYDEMIOLOGY OF ENTEROVIRUS INFECTION IN THE REPUBLIC OF BELARUS IN 2016–2017

Abstract. Enteroviruses are widespread human pathogens characterized by a high level of a genetic diversity. They cause different clinical forms of infection. The aim of the present study was to analyze the molecular epidemiology of enterovirus infection in the application to the structure of its clinical forms in 2016–2017.

ECHO viruses predominated among patients with aseptic meningitis and were prevailing group of enteroviruses in 2016 (all ECHO viruses – 58 %, including ECHO 9 – 26 %, ECHO 6 –14 %, ECHO 16 – 10 %). In 2017, Coxsackieviruses prevailed (68 %), that were including Coxsackievirus B5 (31 %), Coxsackievirus B1, Coxsackievirus B4 and Coxsackievirus A6 (9 % of each serotype). Coxsackieviruses were detected more frequently in patients with vesicular pharyngitis and unspecified enterovirus infection. The results of the molecular epidemiological analysis indicated that the prevalence of ECHO viruses in 2016 and Coxsackieviruses B in 2017 was due to the emergence of numerous new genovariants of these viruses.

Keywords: enterovirus, molecular epidemiology, enteroviral infection, serotype, genovariant

For citation: Paklonskaya N. V., Amvrosieva T. V., Shilova Y. A., Kishkurno E. P. Molecular epydemiology of enterovirus infection in the Republic of Belarus in 2016–2017. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seriya meditsinskikh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2019, vol. 16, no. 3, pp. 339–348 (in Russian). https://doi.org/10.29235/1814-6023-2019-16-3-339-348

Введение. Энтеровирусы (род *Enterovirus* сем. *Picornaviridae*) включают 7 патогенных для человека видов: *Enterovirus A*, *B*, *C*, *D* и *Rhinovirus A*, *B*, *C*. Эти виды, в свою очередь, объединяют сотни серотипов, в том числе вирусы ECHO, Коксаки A, Коксаки B и значительное количество отдельных типов энтеровирусов (ЭВ) [1]. Клинические формы энтеровирусной инфекции также весьма многообразны: серозный менингит, менингоэнцефалит, мио- и перикардит, респираторная и кишечная инфекция, экзантема, увеит, конъюнктивит, гепатит, панкреатит и др. – всего

более 20 клинических синдромов [2]. По современным представлениям в основе такого значительного многообразия клинических форм лежит высокая генетическая изменчивость ЭВ, которая определяет их фенотипическую вариабельность [2].

Применение методов генетики и молекулярной эпидемиологии позволяет идентифицировать генотип ЭВ и установить его генетические характеристики, которые могут определять клинические проявления инфекции.

Цель исследования – анализ результатов молекулярно-эпидемиологического мониторинга разных клинических форм энтеровирусной инфекции в 2016–2017 гг.

Материалы и методы исследования. В рамках надзора за циркуляцией неполиомиелитных ЭВ в Республиканской референс-лаборатории диагностики кишечных вирусных инфекций и санитарной вирусологии за 2016–2017 гг. были исследованы 54 пробы сточной воды и 771 проба клинического материала от 675 пациентов с различными клиническими диагнозами (энтеровирусная инфекция (ЭВИ) неуточненная, энцефалит, серозный менингит, менингоэнцефалит, экзантема, острая респираторная инфекция, респираторная инфекция с кишечным синдромом, везикулярный фарингит/стоматит, острая кишечная инфекция, кардит, гепатит, менингеальный синдром и другие формы нейроинфекции, вирусная инфекция неуточненная).

Детекцию ЭВ в исследуемых пробах осуществляли методом ОТ-ПЦР с использованием наборов «РИБО-преп», «Реверта», «АмплиСенс® Enterovirus-FL» (Россия), «Тест-системы для выявления энтеровирусов методом ПЦР с гибридизационно-флуоресцентной детекцией продуктов реакции «ЭВ-ПЦР» (Республика Беларусь).

Для молекулярного типирования было проведено секвенирование фрагмента, или полного гена основного капсидного белка 92 изолятов ЭВ. Фрагмент для секвенирования накапливали в ОТ-ПЦР с праймерами, разработанными разными авторами [3–5]. Секвенирование ДНК проводили методом терминации цепи с последующим анализом на ДНК-анализаторе CEQ8000.

Поиск гомологичных последовательностей осуществляли в базе данных NCBI с помощью программы BLAST [6]. Для компьютерного анализа последовательностей использовали программу MEGA (Molecular evolutionary genetics analysis) версии 6.0 [7].

Результаты исследования. Спектр ЭВ, циркулировавших в 2016–2017 гг., характеризовался значительным разнообразием, без выраженного преобладания одного типа вируса (рис. 1). Всего было идентифицировано 92 энтеровирусных изолята, принадлежавших к 18 серотипам. Доми-

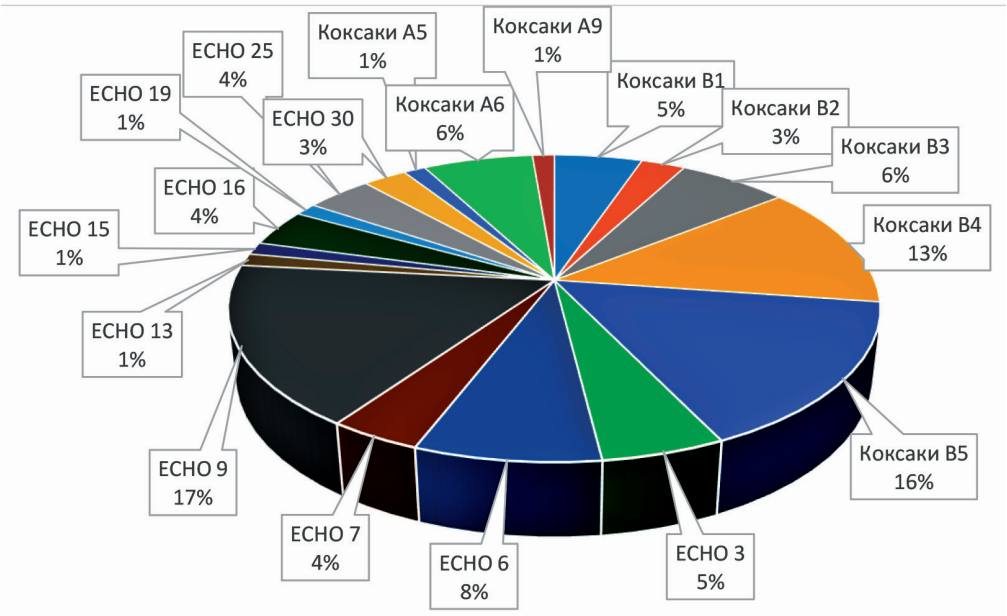


Рис. 1. Спектр циркулировавших в 2016–2017 гг. энтеровирусов

Fig. 1. Spectrum of enteroviruses circulated in 2016–2017

нировали среди них вирусы ECHO 9 (17 %), Коксаки B5 (16 %) и Коксаки B4 (13 %). Реже обнаруживались вирусы ECHO 6 (8 %), Коксаки серотипов B3 (6 %), B1 (5 %) и A6 (6 %).

В результате анализа ассоциации различных типов ЭВ с клиническими формами ЭВИ установлено, что вирусы ECHO достоверно чаще выявлялись у пациентов с серозным менингитом и менингеальным синдромом (ECHO – 26,88 %, Коксаки – 5,38 %, $p < 0,05$), а вирусы Коксаки – у пациентов с ЭВИ неуточненной и везикулярным фарингитом/стоматитом (Коксаки – 17,2 %, ECHO – 2,15 %, $p < 0,05$).

Сравнение характеристик зарегистрированной заболеваемости ЭВИ в 2016 и 2017 гг. показало, что как в спектре клинических проявлений, так и в типовой структуре возбудителей, циркулировавших в течение двух эпидсезонов, наблюдались выраженные различия. Так, в 2016 г. лабораторно подтвержденная ЭВИ значительно чаще протекала в виде серозного менингита (39,5 % – в 2016 г., 13,0 % – в 2017 г.), а в 2017 г. – в виде неуточненной ЭВИ (21,7 % – в 2017 г., 9,2 % – в 2016 г.) и везикулярного фарингита/стоматита (19,1 % – в 2017 г., 1,3 % – в 2016 г.).

Различия в типовой структуре возбудителей заключались в смене доминирующего серотипа: в 2016 г. преобладали изоляты ECHO 9 (26 %), ECHO 6 (14 %), Коксаки B5 (14 %), Коксаки B3 (13 %), ECHO 16 (10 %). В целом спектр циркулировавших серотипов характеризовался преобладанием вирусов ECHO (58 %). В 2017 г. доминировали вирусы Коксаки (68 %), в том числе Коксаки серотипов B5 (31 %), B1, B4 и A6 (по 9 % каждого серотипа). Еще одной особенностью эпидсезона 2017 г. было значительное увеличение доли вирусов Коксаки A среди всех идентифицированных изолятов (17 %), тогда как в 2016 г. их доля составляла только 2 %.

Для изучения молекулярно-эпидемиологических закономерностей, которые повлекли за собой смену преобладающих серотипов ЭВ, проведены секвенирование обнаруженных ЭВ и последующий филогенетический анализ. В результате секвенирования получено 40 нуклеотидных последовательностей вирусов ECHO, 40 нуклеотидных последовательностей вирусов Коксаки B, 10 нуклеотидных последовательностей вирусов Коксаки A и 2 нуклеотидные последовательности ЭВ C99. Все исследованные нуклеотидные последовательности были локализованы в пределах гена основного капсидного белка VP1 ЭВ и имели размер от 250 до 900 н. о., в зависимости от изолята. Они были сгруппированы в три блока анализируемых данных: 1 – вирусы ECHO, 2 – вирусы Коксаки B, 3 – вирусы Коксаки A и ЭВ C99. На основании филогенетического анализа блоков данных нуклеотидных последовательностей вирусов ECHO и Коксаки B были построены два филогенетических древа (рис. 2, 3).

Результат филогенетической реконструкции изолятов различных серотипов вирусов ECHO, циркулировавших в 2016–2017 гг., представлен на рис. 2. Исследовано 40 изолятов, идентифицированных у пациентов и/или выделенных в культуре клеток, 7 изолятов тех же серотипов, которые зарегистрированы в нашей стране ранее, 15 наиболее близких к исследуемым изолятов, выделенных в других странах, 10 прототипных штаммов вирусов ECHO и прототипный штамм Коксаки A24 в качестве внешней группы. Все анализируемые нуклеотидные последовательности достоверно группировались в монофилетические кластеры со своими прототипными штаммами. Доминирующий в 2016 г. серотип ECHO 9, который, как установлено нами ранее, вызвал большинство неврологических форм ЭВИ в 2016 г. [8], был представлен тремя геногруппами вируса, но только одна из них продолжила циркулировать в 2017 г. Вирус ECHO 16 был представлен двумя геновариантами, один из которых также активно циркулировал в 2016 г. и достаточно часто выявлялся у пациентов с неврологическими формами ЭВИ. Циркуляция этого геновариант в 2017 г. не зарегистрирована. В 2016 г. выявлены также вирусы ECHO 3 и ECHO 6. Оба этих серотипа были представлены единственным геновариантом, который продолжил циркуляцию в 2017 г. Новыми серотипами 2017 г. были вирусы ECHO серотипов 15, 13 и 20, и все они были представлены одним геновариантом возбудителя. Новым серотипом в 2017 г. был также ECHO 25, представленный двумя геновариантами, циркулировавшими одновременно. Следует отметить появление в 2017 г. вируса ECHO 30. Результат филогенетического анализа единственного идентифицированного в 2017 г. изолята этого серотипа указывал на его принадлежность к геновариант, зарегистрированному на территории страны ранее – в 2012–2014 гг. Однако он на 3,5–

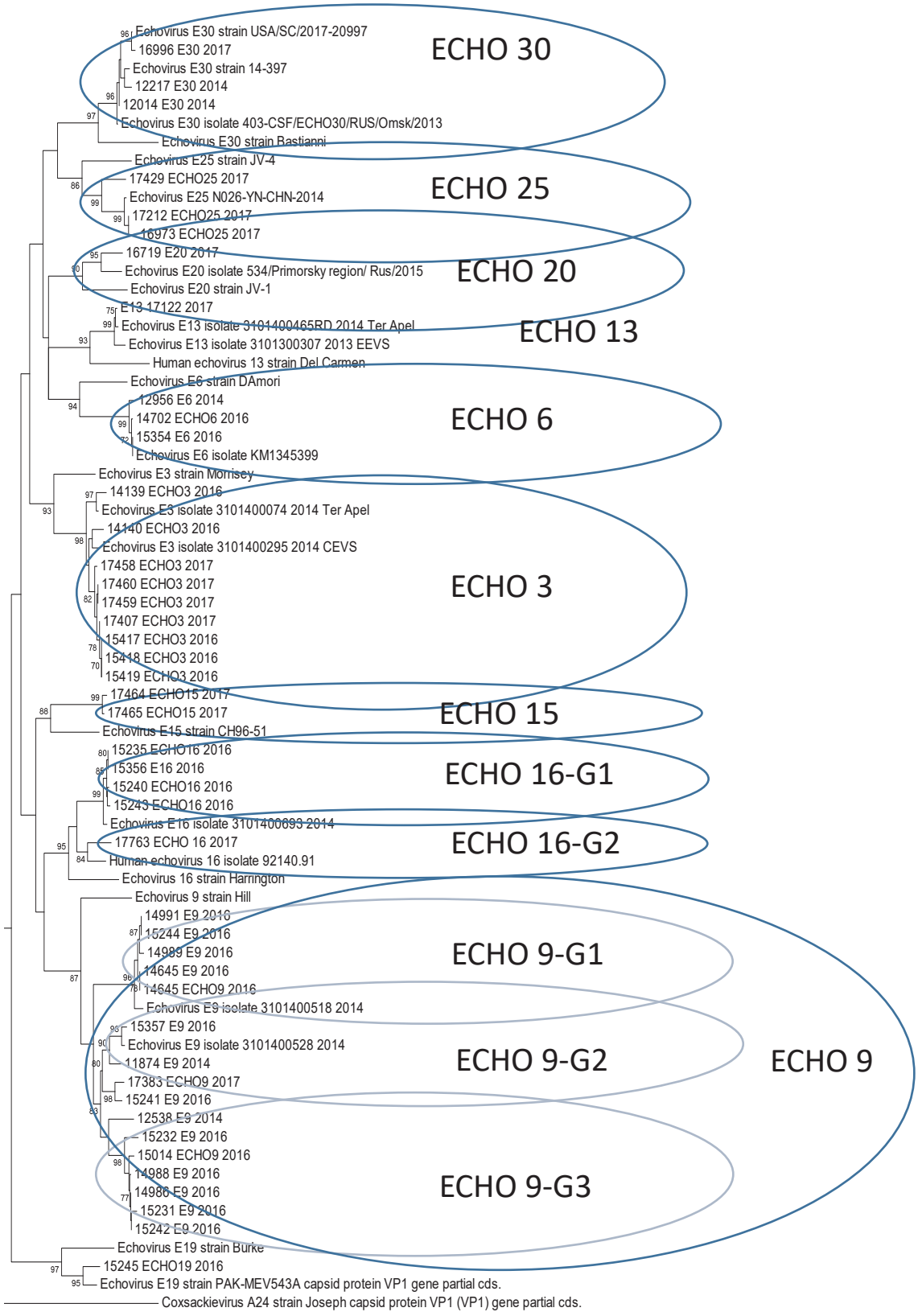


Рис. 2. Результат филогенетической реконструкции 70 нуклеотидных последовательностей (фрагмент гена, кодирующего основной капсидный белок, 250 н.о.) вирусов ECHO

Fig. 2. Result of phylogenetic reconstruction of 70 nucleotide sequences (fragment of the major capsid protein gene, 250 nt) of ECHO viruses

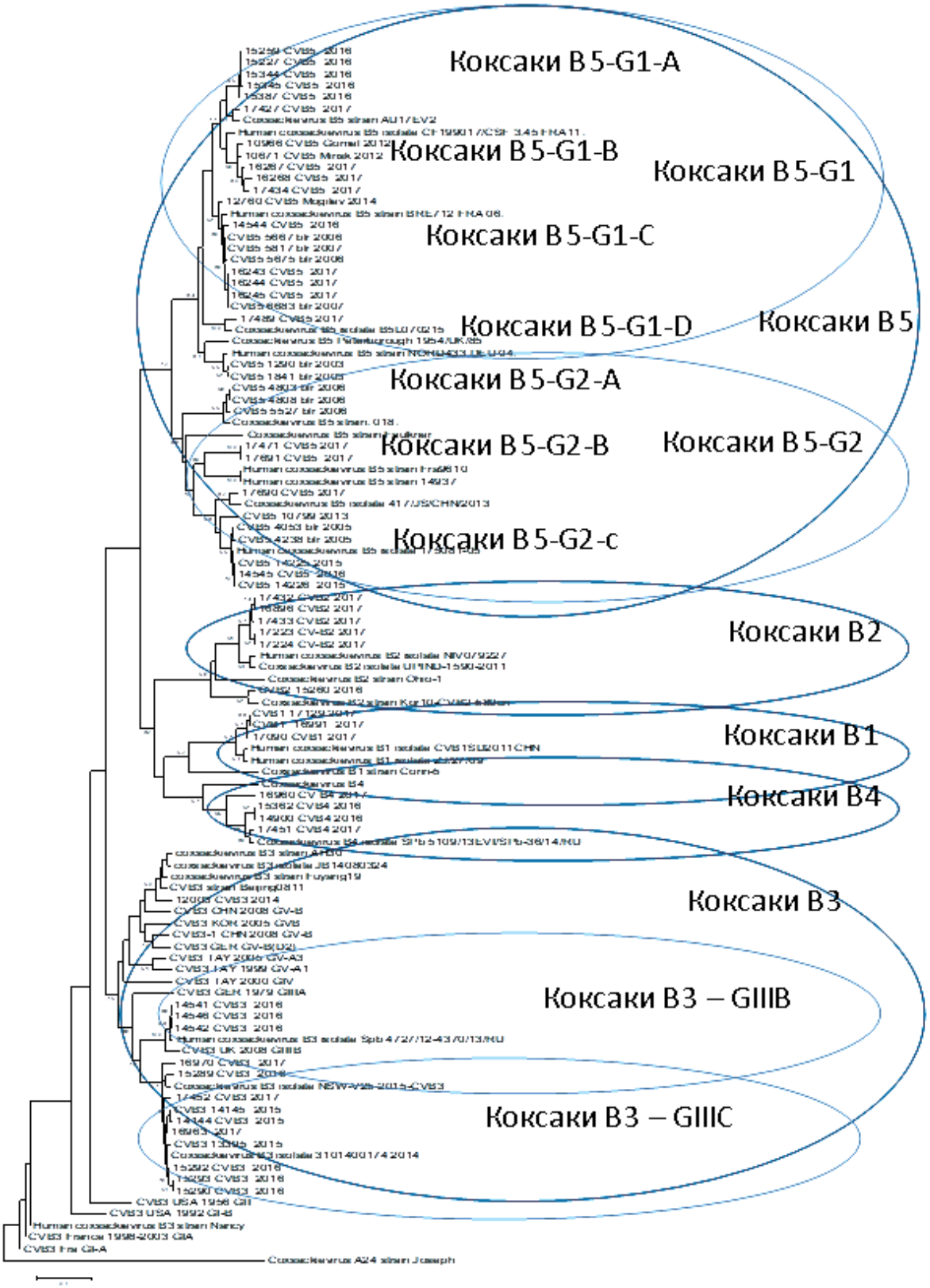


Рис. 3. Результат филогенетической реконструкции 70 нуклеотидных последовательностей (фрагмент гена, кодирующего основной капсидный белок, 250 н.о.) вирусов Коксаки B

Fig. 3. Result of phylogenetic reconstruction of 70 nucleotide sequences (fragment of the major capsid protein gene, 250 nt) of Coxsackieviruses B

6,0 % отличался от других изолятов этого геновариантa и достоверно группировался с вирусами того же серотипа, выделенными от новорожденных с фатальным сепсисом в США в 2017 г.

Таким образом, результаты филогенетического анализа вирусов ECHO указывают на то, что в 2016 г. преобладание среди лабораторно подтвержденных форм ЭВИ серозного менингита было обусловлено циркуляцией двух геногрупп вируса ECHO 9 и одного из геновариантов вируса ECHO 16. Прекращение их циркуляции в 2017 г. привело к снижению заболеваемости неврологическими формами ЭВИ.

Результат филогенетической реконструкции изолятов различных серотипов вирусов Коксаки B, циркулировавших в 2016–2017 гг., представлен на рис. 3. Исследовано 40 изолятов Коксаки B1–B5, идентифицированных у пациентов и/или выделенных в культуре клеток в 2016–2017 гг.; 11 изолятов тех же серотипов, которые регистрировались в нашей стране ранее; 35 наиболее близких к исследуемым изолятов, выделенных в других странах; 5 прототипных штаммов серотипов Коксаки B 1–B5 и 13 прототипных штаммов разных геновариантов вируса Коксаки B3; прототипный штамм Коксаки A24 в качестве внешней группы. Все исследуемые нуклеотидные последовательности формировали монофилетические кластеры с прототипным штаммом соответствующего серотипа – Коксаки B1–B5. Наибольший интерес представляло группирование изолятов внутри этих кластеров, отражающее существование отдельных геновариантов различных серотипов вирусов.

Серотип Коксаки B5 был доминирующим в 2017 г. На рис. 3 видно, что изоляты этого серотипа, выделенные в 2016–2017 гг., группировались в составе 9 геновариантов, которые принадлежали к двум отдельным генетическим линиям вируса Коксаки B5 – GI и GII. В составе генетической линии Коксаки B5 GI выделялись пять геновариантов, четыре из которых циркулировали в 2016–2017 гг.: Коксаки B5 GIA, GIB, GIC, GID. Геновариант Коксаки B5 GIA циркулировал в 2016–2017 гг. и ранее на территории страны не обнаруживался. В среднем доля сходства между нуклеотидными последовательностями изолятов данного геновариантa составила 97,4 %. Геновариант Коксаки B5 GIB включал изоляты, идентифицированные в 2012 и 2017 гг. Средняя доля сходства между последовательностями этого геновариантa – 96,7 %. Геновариант Коксаки B5 GIC представляет наибольший интерес: он объединяет изоляты, выделенные в 2006, 2007, 2014, 2016, 2017 гг. в нашей стране, и изолят 2006 г. из Франции. Генетическая вариабельность внутри данного геновариантa была крайне низкой: средняя доля сходства между составляющими его вирусами по исследуему региону составила 98,8 %, несмотря на то что между периодами их циркуляции прошло более 10 лет. Геновариант Коксаки B5 GID включал только один белорусский вирус 2017 г. и один вирус, выделенный в 2015 г. в Швейцарии (доля сходства между ними составила 96,6 %).

В составе генетической линии Коксаки B5 GII выделены два геновариантa, циркулировавших в 2016–2017 гг.: Коксаки B5 GIIB и GIIC. Геновариант Коксаки B5 GIIB включал вирусы, циркулировавшие в 2017 г. Наиболее близкими к этим изолятам были вирусы, выделенные в 1996 г. во Франции и Нидерландах. Геновариант Коксаки B5 GIIC включал изоляты, выделенные в Беларуси в 2005, 2013, 2015, 2016 и 2017 гг. Внутри данного геновариантa наблюдалась некоторая гетерогенность: изоляты 2005–2016 и 2017 гг. достоверно группировались отдельно, однако различия между ними были недостаточно значимыми, чтобы выделить два отдельных геновариантa. Средняя доля сходства нуклеотидных последовательностей между изолятами геновариантa Коксаки B5 GIIC составила 96,6 %.

Вирусы Коксаки B2, циркулировавшие в 2016 и 2017 гг., на рис. 3 достоверно группировались в составе двух различных геновариантов. Геновариант Коксаки B2A включал только изоляты 2017 г., а геновариант Коксаки B2B – только изоляты 2016 г. Средняя доля сходства внутри геновариантa Коксаки B2A составила 96,3 %, внутри геновариантa Коксаки B2B – 96,6 %.

Изоляты Коксаки B1 циркулировали только в 2017 г. и группировались в составе одного кластера, соответствующего единственному геновариантy вируса.

Вирусы Коксаки B4 также формировали только один кластер, в состав которого входили изоляты как 2016, так и 2017 г.

Вирус Коксаки B3 характеризовался активной циркуляцией в период наблюдения. Часть изолятов, идентифицированных в 2016 г., принадлежала геновариантy GIIIB (по ранее предложен-

ной классификации), тогда как другая часть изолятов 2016 г., а также изоляты 2015 и 2017 гг. формировали новый, ранее не описанный кластер в составе генотипа Коксаки B3GIII, который был обозначен как геновариант GIIIC.

Таким образом, результаты филогенетического анализа вирусов Коксаки В позволили установить, что большинство геновариантов, идентифицированных в 2017 г., регистрировали в стране с 2016 г., а в некоторых случаях и ранее. Новые геноварианты были зарегистрированы для вируса Коксаки серотипов B5 (Коксаки B5 GIB, Коксаки B5 GID, Коксаки B5 GIIB), B2 (Коксаки B2A) и B1. Остальные геноварианты вирусов Коксаки В продолжали циркулировать на протяжении 2 лет и более. Исходя из этого, можно предположить, что изменения в структуре клинических форм ЭВИ в 2017 г. были связаны с появлением новых геновариантов серотипов Коксаки B5, B2 и B1.

Нуклеотидные последовательности вирусов Коксаки А и ЭВ С99 были объединены в общий блок, включающий 12 нуклеотидных последовательностей. В связи с тем что выборка нуклеотидных последовательностей этих серотипов оказалась недостаточной для филогенетической реконструкции, был проведен только генетический анализ, направленный на установление степени сходства между нуклеотидными последовательностями обнаруженных в Беларуси изолятов и вирусами тех же серотипов, циркулировавших за рубежом (см. таблицу). Из полученных данных следует, что ни один из выявленных в 2016 г. серотипов и/или геновариантов этих вирусов не продолжил циркулировать в 2017 г. Так, активный в 2016 г. вирус Коксаки А9 в 2017 г. не обнаруживался, а зарегистрированный в 2016–2017 гг. вирус Коксаки А24 был представлен двумя геновариантами, один из которых выявлен в 2016 г., а другой – в 2017 г. Вирус Коксаки А5 обнаруживался только в 2017 г. и был представлен единственным изолятом. Вирусы Коксаки А6, циркулировавшие в 2017 г., принадлежали к двум различным геновариантам. Большинство (5 из 6) исследованных изолятов (№ 17116, 17120, 17166, 17211, 17393) принадлежали к геновариванту вируса, циркулировавшему в 2013–2014 гг. в странах Западной Европы, тогда как 1 изолят (№ 17113) имел максимальное сходство с изолятами, циркулировавшими в 2013 г. в Китае (98,9 % сходства

Результат генетического анализа нуклеотидных последовательностей вирусов Коксаки А и энтеровируса С99

Result of genetic analysis of the nucleotide sequences of Coxsackie A viruses and enterovirus C99

Изоляты, идентифицированные в 2016–2017 г.	Наиболее близкий штамм, идентифицированный за рубежом	Доля сходства VP1, %	Регион обнаружения наиболее близкого штамма
Coxsackievirus A5 isolate 16975/2017	Enterovirus A strain Milan/16-471/2016	97	Италия, 2016
Coxsackievirus A6 isolate 17113/2017	Coxsackievirus A6 isolate GD632/2013	98,9	Китай, 2013 г.
Coxsackievirus A6 isolate 17116/2017	Coxsackievirus A6 isolate DK/T22324/H/2014	98,2	Дания, 2014
Coxsackievirus A6 isolate 17120/2017	Coxsackievirus A6 isolate DK/T22324/H/2014	98,5	Там же
Coxsackievirus A6 isolate 17166/2017	Coxsackievirus A6 isolate DK/T22324/H/2014	98,7	–//–
Coxsackievirus A6 isolate 17211/2017	Coxsackievirus A6 isolate DK/T22324/H/2014	98,5	–//–
Coxsackievirus A6 isolate 17393/2017	Coxsackievirus A6 isolate DK/T22324/H/2014	98,9	–//–
Coxsackievirus A9 isolate 14976/2016	386/JAR/Rus/2013	97	Россия, 2013
Coxsackievirus A24 isolate 15834/2016	Coxsackievirus A24 isolate CJ36	98	Тайланд, 2014
Coxsackievirus A24 isolate 16720/2017	Coxsackievirus A24 J6-YN-CHN-2017	99	Китай, 2017 г.
Enterovirus C99 isolate 16718/2017	Enterovirus C99 isolate SVK03-23-20226	91	Словакия, 2003
Enterovirus C99 isolate 16718/2017	Enterovirus C99 isolate SVK03-23-20226	91	Словакия, 2003

нуклеотидной последовательности), и принадлежал к одному геновариант Коксаки А6. Энтеровирус С99 был выявлен только в 2017 г. и был представлен двумя изолятами, принадлежащими к одному геновариант.

Из полученных данных видно, что большинство вирусов Коксаки А циркулировали только в 2017 г. Увеличение доли вирусов Коксаки А среди всех идентифицированных ЭВ было обусловлено появлением нового геновариант вируса Коксаки А24 и двух геновариантов вируса Коксаки А6.

Обсуждение. Лабораторный контроль и регулярный молекулярно-эпидемиологический мониторинг ЭВ проводятся в нашей стране уже более 10 лет. Объединение методов классической вирусологии и эпидемиологии с молекулярно-генетическими методами позволяет получить информацию об особенностях распространения ЭВ и формировании ими тех или иных форм инфекционной заболеваемости. В последние 2 года наблюдалось значительное типовое разнообразие как циркулирующих ЭВ, так и вызванных ими клинических форм ЭВИ. Объединение данных лабораторной диагностики и генетического анализа, представленное в данной работе, было направлено на выяснение молекулярно-эпидемиологических закономерностей циркуляции возбудителей, повлиявших на развитие эпидпроцесса в 2016–2017 гг.

Полученные данные свидетельствовали о том, что, несмотря на значительное многообразие циркулировавших в 2016–2017 гг. ЭВ и вызванных ими клинических проявлений инфекции, между двумя эпидсезонами последних лет наблюдались выраженные различия в структуре клинических форм. В основе наблюдаемых различий лежало изменение типовой структуры циркулировавших ЭВ, заключавшееся в смене преобладавших в 2016 г. вирусов ECHO (с доминирующим ECHO 9) на вирусы Коксаки с доминирующим Коксаки В5 и значительной долей вирусов Коксаки А в 2017 г.

Вирусы ECHO, доминирующие в 2016 г., принадлежали к серотипам 3, 6, 7, 9, 16 и 19, причем вирус ECHO 9 доминировал как среди вирусов ECHO, так и среди всех циркулировавших ЭВ. Результаты ранее проведенных исследований показали, что именно данный серотип был основным возбудителем серозного менингита в 2016 г. Причем ранее была установлена одновременная циркуляция четырех геновариантов, среди которых три были новыми в 2016 г., а один – эндемичным [8]. Представленные в настоящей работе данные дополняют ранее полученные результаты и указывают на то, что два из трех геновариантов ECHO 9, которые были причиной подъема заболеваемости серозным менингитом в 2016 г., прекратили свою циркуляцию в 2017 г. Кроме вирусов ECHO 9, большинство серозных менингитов в 2016 г. было вызвано вирусами ECHO 6 и ECHO 16. Последний также был представлен двумя геновариантами, один из которых был причиной серозных менингитов в 2016 г. и не был зарегистрирован в 2017 г. Прекращение циркуляции геновариантов вирусов ECHO серотипов 9, 6, 16 в 2017 г. привело к снижению заболеваемости неврологическими формами ЭВИ.

В 2017 г. среди циркулировавших серотипов преобладали вирусы Коксаки, а в структуре клинических форм доминировали ЭВИ неуточненная и везикулярный фарингит/стоматит. Полученные результаты указывали на достоверно более частое выявление вирусов Коксаки у пациентов именно с этими клиническими формами ЭВИ. Сравнение типовой структуры вирусов Коксаки в 2017 г. с аналогичной их структурой в 2016 г. показало существенное увеличение доли вирусов Коксаки В5 – от 14 до 33 %, Коксаки В1 – от 0 до 9 %, Коксаки В2 – от 2 до 7 %, Коксаки А – от 2 до 17 %. Вместе с тем доля вируса Коксаки В3 снизилась с 12 до 3 %, а доля Коксаки В4 осталась без изменений. Результаты молекулярно-генетического анализа позволили установить причины этих изменений типовой структуры. В 2017 г. появилось два новых геновариант вируса Коксаки В5, а также продолжилась циркуляция четырех геновариантов этого серотипа с 2016 г. В 2017 г. также появились новые геновариант вируса Коксаки – В1 и В2, что привело к увеличению доли этих серотипов в типовой структуре. Резкое увеличение доли вирусов Коксаки А было обусловлено появлением двух новых геновариантов вируса Коксаки А6, а также вирусов Коксаки серотипов А5 и А24. На сегодняшний день вирус Коксаки А6 рассматривается как один из трех (вместе с Энтеровирусом 71 типа и Коксаки А16) доминирующих возбудителей энтеровирусного фарингита с экзантемой или без нее, а с 2009 г. он является преобладающим этиологическим агентом энтеровирусного фарингита с экзантемой в странах Азии. Кроме того, для данного серо-

типа характерно широкое географическое распространение, в том числе активная циркуляция на территории Европейского региона [9]. Следует отметить, что другие серотипы вирусов группы Коксаки А – А5 и А24 также были представлены в 2017 г. геновариантами, для которых описаны сходные клинические проявления: энтеровирусный фарингит – для циркулировавшего в 2017 г. геновариантa Коксаки А5 и энтеровирусный фарингит с экзантемой – для циркулировавшего в 2017 г. геновариантa Коксаки А24 (вспышка в 2017 г. в Китае).

Заключение. В 2016–2017 гг. имело место значительное генетическое разнообразие циркулировавших ЭВ, которое сопровождалось разными клиническими проявлениями вызванных ими инфекций. В 2016 г. среди пациентов с лабораторно подтвержденной ЭВИ чаще регистрировался серозный менингит, вызванный вирусами ECHO, которые в целом доминировали в структуре возбудителей (58 %). Преобладание вирусов ECHO серотипов 9, 16 и 6 среди этиологических агентов серозного менингита сопровождалось одновременной циркуляцией трех геновариантов ECHO 9, двух геновариантов ECHO 16 и одного геновариантa ECHO 6.

В 2017 г. прекратилась циркуляция двух из трех геновариантов ECHO 9 и одного геновариантa ECHO 16, зато обнаружено два новых геновариантa Коксаки В5 в дополнение к четырем, циркулировавшим ранее. Появились также новые геновариантy Коксаки серотипов В1 и В2, два новых геновариантa Коксаки А6, по одному – Коксаки А5 и Коксаки А24, что привело к увеличению доли этих серотипов в типовой структуре до 68 %. Увеличение доли вирусов Коксаки повлекло за собой изменение структуры клинических форм лабораторно подтвержденной ЭВИ, которое выражалось в снижении доли серозного менингита и увеличении доли пациентов с везикулярным фарингитом и неуточненной ЭВИ.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список использованных источников

1. Picornaviridae / N. J. Knowles [et al.] // Virus taxonomy: classification and nomenclature of viruses : Ninth report of the International committee on taxonomy of viruses / A. M. King [et al.]. – San Diego, 2012. – P. 855–880.

2. Picornavirus and enterovirus diversity with associated human diseases / C. Tapparel [et al.] // Infect., Genet. Evol. – 2013. – Vol. 14. – P. 282–293. https://doi.org/10.1016/j.meegid.2012.10.016

3. Typing of human enteroviruses by partial sequencing of VP1 / M. S. Oberste [et al.] // J. Clin. Microbiol. – 1999. – Vol. 37, N 5. – P. 1288–1293.

4. Prospective identification of HEV-B enteroviruses during the 2005 outbreak / A. Mirand [et al.] // J. Med. Virol. – 2006. – Vol. 78, N 12. – P. 1624–1634. https://doi.org/10.1002/jmv.20747

5. Emergence of recent echovirus 30 lineages is marked by serial genetic recombination events / A. Mirand [et al.] // J. Gen. Virol. – 2007. – Vol. 88, N 1. – P. 166–176. https://doi.org/10.1099/vir.0.82146-0

6. Altschul, S. Basic local alignment search tool / S. Altschul // J. Mol. Biol. – 1990. – Vol. 215, N 3. – P. 403–410. https://doi.org/10.1006/jmbi.1990.9999

7. MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 6.0 / K. Tamura [et al.] // Mol. Biol. Evol. – 2013. – Vol. 30, N 12. – P. 2725–2729. https://doi.org/10.1093/molbev/mst197

8. Молекулярная эпидемиология энтеровирусов, вызвавших тяжелые неврологические формы инфекции / Н. В. Поклонская [и др.] // Вес. НАН Беларусі. Сер. біял. навук. – 2017. – № 3. – С. 29–36.

9. Coxsackievirus A6: a new emerging pathogen causing hand, foot and mouth disease outbreaks worldwide / L. Bian [et al.] // Expert. Rev. Antiinfect. Ther. – 2015. – Vol. 13, N 9. – P. 1061–1071. https://doi.org/10.1586/14787210.2015.1058156

References

1. Knowles N. J., Hyypia T., King A. M., Lindberg A. M., Pallansch M., Palmenberg A. C., Simmonds P., Skern T., Stanway G., Yamashita K., Zell R. Picornaviridae. *Virus taxonomy: classification and nomenclature of viruses: Ninth report of the International committee on taxonomy of viruses*. San Diego, 2012, pp. 855–880.

2. Tapparel C., Siegrist F., Petty T. J., Kaiser L. Picornavirus and enterovirus diversity with associated human diseases. *Infection, Genetics and Evolution*, 2013, vol. 14, pp. 282–293. https://doi.org/10.1016/j.meegid.2012.10.016

3. Oberste M. S., Maher K., Kilpatrick D. R., Flemister M. R., Brown B. A., Pallansch M. A. Typing of human enteroviruses by partial sequencing of VP1. *Journal of Clinical Microbiology*, 1999, vol. 37, no. 5, pp. 1288–1293.

4. Mirand A., Archimbaud C., Henquell C., Michel Y., Chambon M., Peigue-Lafeuille H., Bailly J.-L. Prospective identification of HEV-B enteroviruses during the 2005 outbreak. *Journal of Medical Virology*, 2006, vol. 78, no. 12, pp. 1624–1634. https://doi.org/10.1002/jmv.20747

5. Mirand A., Henquell C., Archimbaud C., Peigue-Lafeuille H., Bailly J.-L. Emergence of recent echovirus 30 lineages is marked by serial genetic recombination events. *Journal of General Virology*, 2007, vol. 88, no. 1, pp. 166–176. https://doi.org/10.1099/vir.0.82146-0

6. Altschul S. Basic local alignment search tool. *Journal of Molecular Biology*, 1990, vol. 215, no. 3, pp. 403–410. https://doi.org/10.1006/jmbi.1990.9999

7. Tamura K., Stecher G., Peterson D., Filipski A., Kumar S. MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 6.0. *Molecular Biology and Evolution*, 2013, vol. 30, no. 12, pp. 2725–2729. https://doi.org/10.1093/molbev/mst197

8. Poklonskaya N. V., Amvros'eva T. V., Lozyuk S. K., Shilova Yu. A., Bogush Z. F., Biskina N. M. Molecular epidemiology of enteroviruses in patient with severe neurological infection. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seriya biyalagichnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2017, no. 3, pp. 29–36 (in Russian).

9. Bian L., Wang Y., Yao X., Mao Q., Xu M., Liang Z. Coxsackievirus A6: a new emerging pathogen causing hand, foot and mouth disease outbreaks worldwide. *Expert Review of Anti-infective Therapy*, 2015, vol. 13, no. 9, pp. 1061–1071. https://doi.org/10.1586/14787210.2015.1058156

Информация об авторах

Поклонская Наталья Владимировна – канд. биол. наук, вед. науч. сотрудник. Республиканский научно-практический центр эпидемиологии и микробиологии (ул. Филимонова, 23, 220114, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: labsanvir@gmail.com

Амвросьева Тамара Васильевна – д-р мед. наук, профессор, заведующий лабораторией. Республиканский научно-практический центр эпидемиологии и микробиологии (ул. Филимонова, 23, 220114, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: amvrosieva@gmail.com

Шилова Юлия Александровна – мл. науч. сотрудник. Республиканский научно-практический центр эпидемиологии и микробиологии (ул. Филимонова, 23, 220114, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: labsanvir@gmail.com

Кишкурно Елена Петровна – канд. мед. наук, доцент. Белорусская медицинская академия последипломного образования (ул. П. Бровки, 3/3, 220013, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: e-kishkurno@yandex.ru

Information about the authors

Natalia V. Paklonskaya – Ph. D. (Biol.), Leading researcher. Republican Scientific and Practical Center for Epidemiology and Microbiology (23, Filimonov Str., 220114, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: labsanvir@gmail.com

Tamara V. Amvrosieva – Ph. D. (Med.), Professor, Head of the Laboratory. Republican Scientific and Practical Center for Epidemiology and Microbiology (23, Filimonov Str., 220114, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: amvrosieva@gmail.com

Yuliya A. Shilova – Junior researcher. Republican Scientific and Practical Center for Epidemiology and Microbiology (23, Filimonov Str., 220114, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: labsanvir@gmail.com

Elena P. Kishkurno – Ph. D. (Med.), Assistant Professor. Belarusian Medical Academy of Postgraduate Education (3/3, P. Browka Str., 220013, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: e-kishkurno@yandex.ru

ISSN 1814-6023 (Print)
ISSN 2524-2350 (Online)

УДК 575.224.22:616.8-009.863-053.1
https://doi.org/10.29235/1814-6023-2019-16-3-349-356

Поступила в редакцию 08.04.2019
Received 08.04.2019

И. Е. Гурьянова, Е. А. Полякова, М. В. Белевцев, О. В. Алейникова

Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии, Минск, Республика Беларусь

МУТАЦИОННЫЙ СПЕКТР ГЕНА *SERPING1* У ПАЦИЕНТОВ С ВРОЖДЕННЫМ АНГИОНЕВРОТИЧЕСКИМ ОТЕКОМ

Аннотация. Врожденный ангионевротический отек (ВАО) представляет собой редкое генетическое заболевание, в основе первого и второго типов которого лежат мутации в гене *SERPING1*, кодирующем С1-ингибитор. Первый тип ВАО является количественным дефицитом С1-INH, второй тип – функциональным дефицитом С1-INH. Структурные аномалии гена *SERPING1* у пациентов с ВАО очень гетерогенны. Распространенность ВАО первого и второго типов в мире составляет 1 случай на 10 000–50 000 населения и не зависит от расовых или половых различий. ВАО третьего типа встречается еще реже и, в отличие от первого и второго типов, не связан с уровнями С1-ингибитора.

Цель данного исследования – оценить спектр генетических нарушений, лежащих в основе ВАО, и определить их носительство у симптомных родственников в семье и у всех сиблингов даже без клинической манифестации ВАО.

В результате нашего исследования у 45 пациентов (64,44 % женщин, 35,56 % мужчин) из 19 неродственных семей на основании выявленной мутации в гене *SERPING1* был подтвержден диагноз ВАО. У двух пациентов из одной семьи была выявлена миссенс-мутация, приводящая к формированию ВАО второго типа. Остальные обнаруженные мутации способствовали формированию ВАО первого типа (n = 43). В зависимости от типа мутации распределились следующим образом: дефекты в сплайс-сайтах – 37,7 %, миссенс-мутации – 33,3, сдвиг рамки считывания из-за небольших делеций – 17,8, крупные делеции – 6,7, нонсенс-мутации – 4,5 %. Мутации *de novo* выявлены у 8 (17,78 %) пациентов, т. е. их семейный анамнез не был отягощен. Шести пациентам на основании характерной для их семьи мутации еще на досимптомной стадии был поставлен диагноз «врожденный ангионевротический отек». Кроме того, нами обнаружено 9 мутаций (ранее не описанных в литературе), которые приводят к формированию ВАО. Разнообразие выявленных мутаций подчеркивает гетерогенность дефицита С1-INH.

Ключевые слова: врожденный ангионевротический отек, новые мутации, дефицит С1-ингибитора, ангионевротический отек

Для цитирования: Мутационный спектр гена *SERPING1* у пациентов с врожденным ангионевротическим отеком / И. Е. Гурьянова [и др.] // Вес. Нац. акад. навук Беларусі. Сер. мед. навук. – 2019. – Т. 16, № 3. – С. 349–356. https://doi.org/10.29235/1814-6023-2019-16-3-349-356

I. E. Guryanova, K. A. Paliakova, M. V. Belevtsev, O. V. Aleynikova

Belarusian Research Center for Pediatric Oncology, Hematology and Immunology, Minsk, Republic of Belarus

MUTATIONAL SPECTRUM OF THE *SERPING1* GENE IN PATIENTS WITH HEREDITARY ANGIOEDEMA

Abstract. Hereditary angioedema due to the C1-inhibitor deficiency (Type I) or the dysfunction (Type II) is a rare genetic condition characterized by recurrent episodes of edema with an estimated frequency of 1:10 000 and 1:50 000 in the global population without racial or gender differences. HAE Type III is even less common, and unlike Types I and II, it does not appear to be connected with the levels of the C1-inhibitor. For 45 patients (64.44 % female; 35.56 % male) from 19 unrelated families C1-INH-HAE was confirmed. A series of 19 different mutations in the SERPING1 gene was identified: 17 splicing (37.7 %), 15 missense (33.3 %), 8 frameshift (17.8 %), 3 large del (6.7 %), 2 nonsense (4.5 %) mutations were found. De novo mutations were detected in 8 patients (17.78 %). For 6 patients, the HAE diagnosis was determined at the pre-symptom stage. 9 C1NH mutations had not been previously described. The number of different mutations identified highlights the heterogeneity of the C1 inhibitor deficiency.

Keywords: Hereditary angioedema, novel mutations, C1 inhibitor deficiency, angioedema

For citation: Guryanova I. E., Paliakova K. A., Belevtsev M. V., Aleynikova O. V. Mutational spectrum of the *SERPING1* gene in patients with hereditary angioedema. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seriya meditsinskikh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2019, vol. 16, no. 3, pp. 349–356 (in Russian). https://doi.org/10.29235/1814-6023-2019-16-3-349-356

Введение. Врожденный ангионевротический отек (ВАО) представляет собой генетическое заболевание с аутосомно-доминантным типом наследования, в основе которого чаще всего лежит мутация в гене *SERPING1*, кодирующем С1-ингибитор. Первый тип ВАО является количественным дефицитом С1-INH, второй тип – функциональным дефицитом С1-INH. С 2000 г. была идентифицирована новая форма ВАО с нормальным С1-INH (ВАО третьего типа), которая имеет сходный клинический фенотип с С1-INH-HAE [1].

Частота встречаемости ВАО первого и второго типов составляет 1 случай на 10 000–50 000 населения. ВАО третьего типа выявляется очень редко. По литературным данным, во всем мире на 2018 г. описано всего 208 семей с ВАО третьего типа. Из них описано 112 семей с мутацией в гене *FXII*, 3 семьи с мутацией в гене *ANGPT1*, 21 семья с мутацией в гене *PLG* и предположительно 72 семьи с ВАО неизвестного происхождения [2].

Основной причиной ВАО является генетическая поломка в одном из двух аллелей гена *SERPING1*, который кодирует синтез ингибитора эстеразы компонента комплемента С1-ингибитора, что приводит к снижению количества и/или функциональной активности С1-ингибитора. Последний продуцируется в гепатоцитах и моноцитах. Он инактивирует С1-компонент комплемента и классический путь активации комплемента, связываясь с С1r и С1s, предотвращает переход прекалликреина в калликреин, плазмогена в плазмин, активацию XII фактора свертывания. При его недостатке происходит увеличение содержания брадикинина с последующим усилением проницаемости сосудистой стенки и развитием отека [3].

Структурные аномалии гена *SERPING1* у пациентов с С1-INH-HAE очень гетерогенны. Для них характерны точечные мутации, приводящие к замене аминокислоты или к формированию стоп-кодона, мутациям в сплайс-сайтах и регуляторных регионах, делециям/вставкам, приводящим к сдвигу рамки считывания в гетерозиготном состоянии. В литературе приводится описание только нескольких гомозиготных мутаций, главным образом у пациентов, рожденных от брака между кровными родственниками [1].

На сегодняшний день выявлено более 560 мутаций, вызывающих дефицит С1NH [4] и приводящих к сбою в формировании или активности белка С1-INH. ВАО первого типа (85 %) характеризуется количественным дефицитом С1-ингибитора и С4-компонента системы комплемента более чем на 50 % от нижней границы нормы и связан с мутациями в гене *SERPING1*, кодирующем С1-ингибитор.

При втором типе ВАО (≈15 %) отеки обусловлены функциональной недостаточностью С1-ингибитора, хотя он вырабатывается в достаточном количестве. К данному дефекту приводят также мутации в гене *SERPING1*. ВАО второго типа характеризуется снижением количества С4 более чем на 50 % от нижней границы нормы при нормальном или повышенном уровне С1-ингибитора. Нефункционирующий ингибитор не расходуется и накапливается в сыворотке крови.

Приблизительно 25 % от всех мутаций в гене *SERPING1* являются мутациями *de novo*, поэтому семейный анамнез может быть не отягощен [5]. Когда мутация выявлена, необходимо определить ее носительство у симптомных родственников и всех сиблингов даже без клинической манифестации ангионевротических отеков.

ВАО третьего типа (≈1 %) характеризуется тем, что концентрация С1-ингибитора и С4 в плазме крови остается в пределах нормы. ВАО третьего типа условно делят на два подтипа: ВАО с мутацией в гене *FXII* (*FXII-HAE*) и ВАО с мутацией в одном из генов, участвующих в каскаде взаимодействий формирования брадикинин-зависимых отеков *(U-HAE*).

Цель исследования – оценить в когорте пациентов Республики Беларусь спектр генетических нарушений, лежащих в основе врожденного ангионевротического отека, и определить их носительство у симптомных родственников в семье и у всех сиблингов даже без клинической манифестации данного отека.

Материалы и методы исследования. В молекулярно-генетическое исследование было включено 68 пациентов, у которых предполагалось наличие ВАО, как с семейным анамнезом, так и без него. Данная группа была сформирована на основании клинической картины отеков и результатов лабораторных тестов измерения уровней $C3_c$, С4, С1-INH. Информированное согласие было получено у всех пациентов и/или их официальных опекунов. Для молекулярно-генетического исследования использовали периферическую кровь с антикоагулянтом К2 ЭДТА.

Кровь подвергали первичной обработке для лизиса эритроцитов и получения суспензии лейкоцитов, из которой в последующем методом фенол-хлороформной экстракции выделяли ДНК.

С выделенной ДНК проводили серию ПЦР на искомый ген (*SERPING1*). Подбор праймеров осуществляли с учетом следующих требований: длина праймеров – 18–22 нуклеотида, температура отжига – 55–65 °С, содержание GC-пар – не более 70 %, отсутствие на 3′-конце стабильных петель, неспособность формировать праймер-димеры со вторым праймером, отсутствие кластеров повторяющихся нуклеотидов, отсутствие альтернативных сайтов отжига прямого и обратного праймеров на ДНК человека в пределах одной хромосомы. Подобранные пары праймеров позволяли амплифицировать не только последовательности экзонов, но и сплайс-сайты. После прохождения ПЦР амплификат проверяли в агарозном геле на наличие специфического продукта. Для обнаружения мутантных аллелей все состоятельные образцы подлежали следующему этапу – SSCP (использовали 10 %-ный полиакриамидный гель, в котором соотношение акриламид/бисакриламид составляло 39:1). Образцы, в которых конформация однонитевых фрагментов изменилась по сравнению с контролем, секвенировали на генетическом анализаторе ABI 3130, Hitachi. С 2018 г. для диагностики ВАО стали применять также высокопроизводительное секвенирование (NGS) ампликонов гена *SERPING1* на генетическом анализаторе MiSeq, Illumina. Для высокопроизводительного секвенирования праймеры подбирали таким образом, чтобы с помощью полученных фрагментов анализировать кодирующие области и прилегающие к ним сплайс-сайты, Alu-регионы и регуляторную часть. Все клинически значимые изменения подтверждали секвенированием по Sanger либо MLPA.

Полученные по результатам секвенирования нуклеотидные последовательности пациента сравнивали с референсными [6]. При капиллярном секвенировании анализ проводили при помощи специализированного программного обеспечения Sequencing Analysis 5.2 и BioEdit. При применении высокопроизводительного секвенирования данные обрабатывали с помощью автоматизированного алгоритма, включающего выравнивание прочтений на референсную последовательность генома человека (hg19), постпроцессинг выравнивания, выявления вариантов и фильтрации вариантов по качеству, а также аннотации выявленных вариантов с применением программы VariantStudio3.0 и IGV. Выявленные однонуклеотидные отличия анализировали с применением компьютерной программы предсказания патогенности PolyPhen2. Онлайн-программу HOPE использовали для поиска отличий и оценки влияния мутации на размер, заряд и уровень гидрофобности; на контакты, нарушенные изменением аминокислоты, и структурные домены, в которых расположена аминокислота.

Результаты и их обсуждение. В молекулярно-генетическое исследование было включено 68 пациентов (40 (58,8 %) женщин и 28 (41,2 %) мужчин), предположительно имевших ВАО, с семейным анамнезом или без него. Данная группа была сформирована на основании клинической картины отеков и результатов лабораторных тестов измерения количества $C3_c$, C4, C1-INH.

Всем 68 пациентам выполнялся прескрининг экзонов гена *SERPING1* методом исследования конформационного полиморфизма однонитевой ДНК по подвижности в полиакриамидном геле (SSCP) (рис. 1), с последующим подтверждением наличия мутации с помощью капиллярного секвенирования по Sanger.

Если по результатам SSCP отличия отсутствовали либо при секвенировании отличающегося фрагмента у пациентов был выявлен непатогенный полиморфизм, продолжали прямое секвенирование всех экзонов, поскольку метод SSCP позволяет визуализировать только 60–70 % от общего числа имеющихся отличий и мутацию можно упустить. С 2018 г. для диагностики ВАО нами стало применяться также высокопроизводительное секвенирование (NGS) ампликонов гена *SERPING1*, что позволило обойтись без предскринига SSCP. Праймеры для высокопроизводительного секвенирования подбирали таким образом, чтобы иметь возможность с помощью полученных фрагментов анализировать кодирующие области и прилегающие к ним сплайс-сайты, Alu-регионы и регуляторную часть. Методика позволяет обследовать до 24 пациентов одновременно, что значительно сокращает стоимость и время, а также повышает точность выполнения молекулярно-генетического исследования.

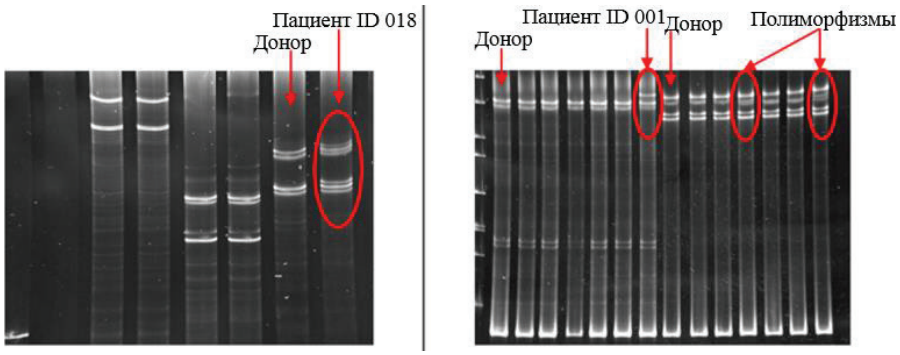


Рис. 1. Конформационный полиморфизм однонитевой ДНК в полиакриамидном геле (показаны отличия в подвижности ДНК пациентов ID 018 (*a*), ID 001 (*b*) и здорового донора)

Fig. 1. Conformational polymorphism of single-stranded DNA in a polyacryamide gel (shows the differences in the mobility of the DNA of patients ID 018 (*a*), ID 001 (*b*) and a healthy donor)

Молекулярно-генетический анализ подтвердил диагноз ВАО у 39 пациентов. В соответствии с полученными результатами молекулярно-генетического исследования определяли носительство мутации у симптомных родственников в семье и всех сиблингов, даже без клинической манифестации ВАО. В результате 6 пациентам диагноз был поставлен на досимптомной стадии. У 17 обследуемых родственников семейной мутации не выявлено. По итогам нашего исследования всего у 45 пациентов (64,44 % женщин, 35,56 % мужчин) из 19 неродственных семей

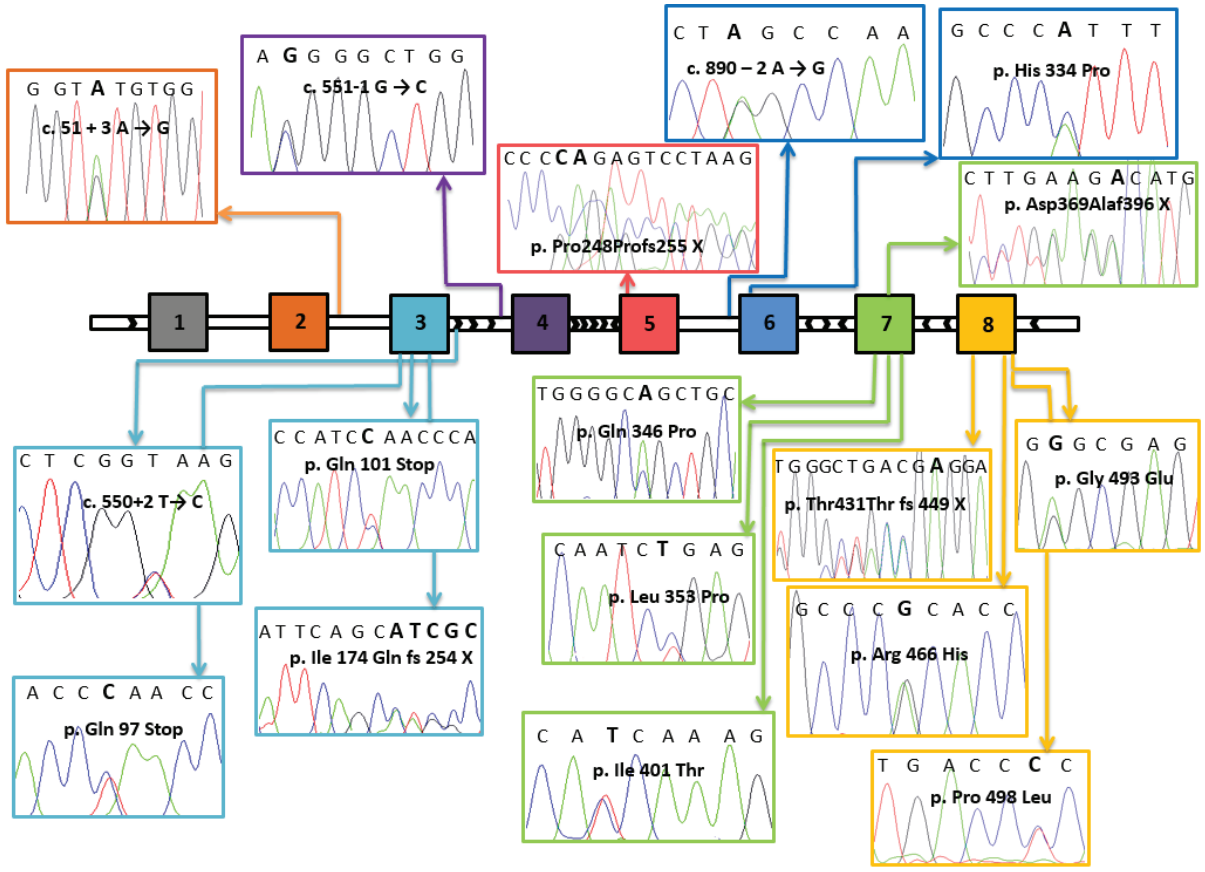


Рис. 2. Результаты молекулярно-генетического исследования гена *SERPING1*, визуализированные в программе Sequencing Analysis 5.2

Fig. 2. Molecular genetic results of the gene *SERPING1* visualized in the program Sequencing Analysis 5.2

диагноз ВАО был подтвержден генетически. У двух пациентов из одной семьи обнаружена миссенс-мутация, приводящая к формированию ВАО второго типа. Остальные выявленные мутации приводили к формированию ВАО первого типа (43 пациента).

Мутационный скрининг кодирующей области гена *SERPING1* и прилегающих к ним сплайс-сайтов выявил 19 различных мутаций. В зависимости от типа мутации распределились следующим образом: 17 (37,7 %) дефектов в сплайс-сайтах, 15 (33,3 %) миссенс-мутаций, 8 (17,8 %) небольших делеций, приводящих к сдвигу рамки считывания, 3 (6,7 %) крупные делеции, 2 (4,5 %) нонсенс-мутации. Из них 9 мутаций ранее не были описаны в литературе. Мутации *de novo* были выявлены у 8 (17,78 %) пациентов, т. е. их семейный анамнез не был отягощен. Найденные мутации представлены в виде капиллярного секвенирования на рис. 2. Генетическая характеристика выявленных мутаций в гене *SERPING1* в когорте пациентов Республики Беларусь представлена в табл. 1. Наличие крупной делеции, а именно делеции четвертого экзона, у трех членов одной семьи было подтверждено MLPA-анализом (мультиплексная проба-зависимая лигазная реакция) и методом NGS, а затем с помощью программы in/del SNV kit.

Т а б л и ц а 1. **Генетическая характеристика выявленных мутаций в гене SERPING1 в когорте пациентов Республики Беларусь**

T a b l e 1. **Genetic characteristics of the identified mutations in the SERPING1 gene in the cohort of patients of the Republic of Belarus**

№ семьи	К-во пациентов	Экзон	Выявленная мутация		Тип мутации	PolyPhen2	dbSNP ID	Автор (год)
			по кодирующей	по белку				
1	7	3	c. 550+2 T→C		Splising			Наши данные
2	5	8	c. 1478 G→A	p. Gly49Glu	Missense	1,000	CM022845	Kalmar L. с соавт. (2003)
3	1	3	c. 520-524del ATCGC	p. Ile174Glnfs254X	Frameshift			Наши данные
4	5	8	c. 1293 del A	p. Thr431Thrfs449X	Frameshift			Наши данные
5	3	4	Del 4 exon		Large del			Gößwein T. с соавт. (2008)
6	1	3	c. 289 C→T	p. Gln97Stop	Nonsense		CM128686	Zuraw B. (2017)
7	2	4	c. 551-1 G→A		Splising			Наши данные
8	1	7	c. 1106 del A	p. Asp369Alafs396X	Frameshift		CD033556	Kalmar L. с соавт. (2003)
9	1	3	c. 301 C→T	p. Gln101Stop	Nonsense			Andrejevi Ä с соавт. (2015)
10	5	4	c. 551-1 G→C		Splising			Наши данные
11	1	5	c. 744-745 del CA	p. Pro248Profs255X	Frameshift			Наши данные
12	2	8	c. 1397 G→A	p. Arg466His	Missense	0,66	rs121907948	Skriver K. с соавт. (1989)
13	2	2	c. 51+3 A→G		Splising		CS053487	Duponchel C. с соавт. (2006)
14	1	7	c. 1202 T→C	p. Ile401Thr	Missense	0,949		Наши данные
15	1	8	c. 1493 C→T	p. Pro498Leu	Missense	1,000		Gößwein T. с соавт. (2008)
16	1	6	c. 890-2 A→G		Splising		D0077: g.9903 A→G	Bowen B. с соавт. (2001)
17	1	7	c. 1037 A →C	p. Gln346Pro	Missense	0,996		Наши данные
18	1	6	c. 1001 A→C	p. His334Pro	Missense	0,969		Наши данные
19	4	7	c. 1058 T→C	p. Leu353Pro	Missense	1,000		Gößwein T. с соавт. (2008)

П р и м е ч а н и е. Запись нуклеотидов представлена согласно референсной последовательности ENST00000278407.8.

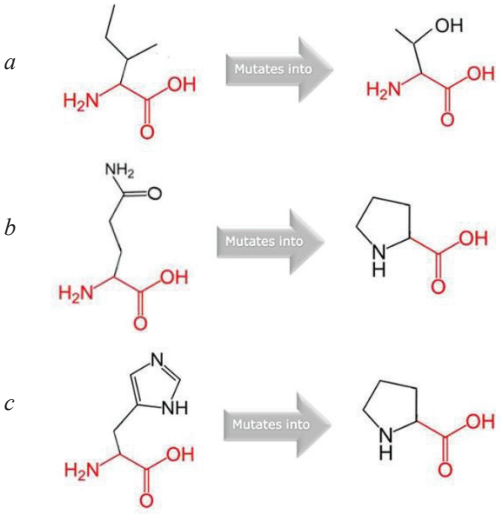


Рис. 3. Структурные различия между аминокислотами дикого типа и мутантными (*a* – p. Ile401Thr; *b* – p. Gln346Pro; *c* – p. His334Pro)

Fig. 3. Structural differences between wild-type and mutant amino acids (*a* – p. Ile401Thr; *b* – p. Gln346Pro; *c* – p. His334Pro)

Как видно из табл. 1, ранее нами выявлены не описанные в литературе мутации: три мутации в сплайс-сайтах (c. 550+2 T→C, c. 551-1 G→A, c. 551-1 G→C), которые были детектированы у 7, 2 и 5 пациентов соответственно из трех неродственных семей; три делеции, приводящие к сдвигу рамки считывания и формированию преждевременного стоп-кодона (c. 520-524 del ATCGC (p. Ile 174 Gln fs 254 X), c. 1293 del A (p. Thr431Thr fs 449 X), c. 744-745 del CA (p. Pro248Profs255 X)), которые были детектированы у 7 пациентов из трех неродственных семей; три миссенс мутации (c. 1202 T→C (p. Ile 401 Thr), c. 1037 A →C (p. Gln 346 Pro), c. 1001 A→C (p. His 334 Pro)).

Выявленные нами однонуклеотидные замены, приводящие к изменению одной аминокислоты на другую (p. I401T, p. Q346P, p. H334P), были проанализированы с применением компьютерной программы предсказания патогенности PolyPhen2. Для всех замен результат предсказания патогенности оценен как «высокопатогенный». Имеются структурные различия между аминокислотами дикого типа и мутантными (рис. 3). Так, аминокислоты дикого типа и мутантные различаются по размеру, причем мутантные аминокислоты меньше. Следовательно, мутация приведет к образованию пустого места в ядре белка. Вследствие имеющихся различий в размерах между аминокислотами новая аминокислота, находясь в неправильном положении, не может образовать ту же водородную связь, что и исходная аминокислота дикого типа. Поскольку все мутантные аминокислоты являются более гидрофобными, чем аминокислоты дикого типа, это приводит к потере гидрофобных взаимодействий в ядре белка. Различия в гидрофобности будут влиять на образование водородной связи. Мутации приведут к потере водородных связей в ядре белка и в результате нарушат правильное сворачивание. Все аминокислоты, находясь в домене, который важен для функциональной активности белка, контактируют с другим доменом, который также важен для его функциональной активности. Взаимодействие между этими доменами может быть нарушено мутациями, что оказывает влияние на функциональную способность белка.

Результаты исследования всех анализируемых признаков показали, что выявленные нами изменения аминокислот будут патогенными и будут влиять на функциональные способности и структурную стабильность белка C1-NH [7].

Сравнительная характеристика выявленных нами генетических нарушений типов мутаций с мировыми данными приведена в табл. 2.

Т а б л и ц а 2. **Сравнительная характеристика выявленных генетических нарушений с мировыми данными [8]**

T a b l e 2. **Comparative characteristics of the identified genetic disorders with world data**

Тип мутации	Наши данные, %	Мировые данные, %
Миссенс-мутации	33,3	34
Сдвиг рамки считывания из-за небольших делеций или вставок	17,8	31
Крупные делеции и реаранжировки	6,7	17
Дефекты в сплайс-сайтах	37,7	10
Нонсенс-мутации	4,5	7
Регуляторные мутации	–	1
De novo мутации	17,78	25

В целом полученные нами результаты сопоставимы с мировыми данными, за исключением одного сильно отличающегося показателя – частоты встречаемости дефектов в сплайс-сайтах. Такое смещение произошло в первую очередь из-за большого числа пациентов с данным типом мутации (17/45), которые относятся к 5 (5/19) семьям.

Заключение. Молекулярно-генетическая диагностика необходима для своевременной постановки правильного диагноза, определения дальнейшей тактики ведения пациента. Изучение патогенеза наследственных форм ангионевротических отеков на молекулярно-генетическом уровне позволяет проводить не только дифференциальную диагностику, но и верифицировать ВАО на досимптомной стадии.

В результате нашего исследования у 45 пациентов (64,44 % женщин, 35,56 % мужчин) из 19 неродственных семей генетически был подтвержден диагноз ВАО. У двух пациентов из одной семьи была выявлена миссенс-мутация, приводящая к формированию ВАО второго типа. Остальные выявленные мутации приводили к формированию ВАО первого типа (43 пациента).

В Республике Беларусь в когорте пациентов с ВАО, как правило, преобладают миссенс-мутации и дефекты в сплайс-сайтах – 33,3 и 37,7 % соответственно.

По результатам исследования 6 пациентам на основании выявленной мутации, характерной для их семьи, был поставлен диагноз «врожденный ангионевротический отек» еще на досимптомной стадии.

Выявлено также 9 мутаций (ранее не описанных в литературе), которые приводят к формированию ВАО.

Мутации *de novo* были найдены у 8 (17,78 %) пациентов, т. е. их семейный анамнез не был отягощен.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Благодарности. Работа выполнена при финансовой поддержке Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований (грант № М18М-004 от 30 мая 2018 г.).

Acknowledgements. This work was supported by the Belarusian Republican Foundation for Fundamental Research (Grant no. M18M-004 of May 30, 2018).

Список использованных источников

1. Classification, diagnosis, and approach to treatment for angioedema: consensus report from the Hereditary Angioedema International Working Group / M. Cicardi [et al.] // Allergy. – 2014. – Vol. 69, N 5. – P. 602–616. https://doi.org/10.1111/all.12380

2. Ferkas, H. Pathophysiology and clinic of primary angioedema with normal C1 inhibitor / H. Ferkas, A. Grumach, M. Riedl // Primary angioedema with normal C1 inhibitor What is new? (October 3–5, 2018). – Gazzada Schianno, Italy, 2018. – P. 26–37.

3. Углова, Т. А. Первичный иммунодефицит: руководство для врачей и пациентов / Т. А. Углова. – Минск : Наша Идея, 2018. – 161 с.

4. The Human Gene Mutation Database at the Institute of Medical Genetics in Cardiff [Electronic resource]. – Mode of access : http://www.hgmd.cf.ac.uk/ac/index.php. – Date of access : 03.10.2018.

5. Agostoni, A. Inherited C1 inhibitor deficiency / A. Agostoni // Complement Inflamm. – 1989. – Vol. 6. – P. 112–118.

6. Ensembl genome browser 95 [Electronic resource]. – Mode of access : http://www.ensembl.org/index.html. – Date of access : 05.04.2019.

7. Protein structure analysis of mutations causing inheritable diseases. An e-Science approach with life scientist friendly interfaces / H. Venselaar [et al.] // BMC Bioinformatics. – 2010. – Vol. 11, N 1. – P. 1–10. https://doi.org/10.1186/1471-2105-11-548

8. Anastasios E. Germenis. Genotyping C1-INH defciency patients: methods, pitfalls and biases // Allergy, Asthma Clin. Immunol. – 2017. – 13 (Suppl. 2). – P. 4. https://doi.org/10.1186/s13223-017-0198-5

References

1. Cicardi M., Aberer W., Banerji A., Bas M., Bernstein J. A., Bork K. [et al.]. Classification, diagnosis, and approach to treatment for angioedema: consensus report from the Hereditary Angioedema International Working Group. *Allergy*, 2014, vol. 69, no. 5, pp. 602–616. https://doi.org/10.1111/all.12380

2. Ferkas H., Grumach A., Riedl M. Pathophysiology and clinic of primary angioedema with normal C1 inhibitor. *Primary angioedema with normal C1 inhibitor What is new? (October 3–5, 2018).* Gazzada Schianno, Italy, 2018, pp. 26–37.

3. Uglova T. A. *Primary immunodeficiency disease: a guide for doctors and patients*. Minsk, Nasha Ideya Publ., 2018, 161 p. (in Russian).

4. The Human Gene Mutation Database at the Institute of Medical Genetics in Cardiff. Available at: http://www.hgmd.cf.ac.uk/ac/index.php (accessed 03.10.2018).

5. Agostoni A. Inherited C1 inhibitor deficiency. *Complement Inflamm*, 1989, vol. 6, pp. 112–118.

6. Ensembl genome browser 95. Available at: http://www.ensembl.org/index.html (accessed 05.04.2019).

7. Venselaar H., Te Beek T. A. H., Kuipers R. K. P., Hekkelman M. L., Vriend G. Protein structure analysis of mutations causing inheritable diseases. An e-Science approach with life scientist friendly interfaces. *BMC Bioinformatics*, 2010, vol. 11, no. 1, pp. 1–10. https://doi.org/10.1186/1471-2105-11-548

8. Anastasios E. Germenis. Genotyping C1-INH defciency patients: methods, pitfalls and biases. *Allergy, Asthma & Clinical Immunology*, 2017, 13 (Suppl. 2). – P. 4. https://doi.org/10.1186/s13223-017-0198-5

Информация об авторах

Гурьянова Ирина Евгеньевна – науч. сотрудник. Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии (ул. Фрунзенская, 43, 223053, Минский р-н, д. Боровляны, Республика Беларусь). E-mail: guryanovairina1985@gmail.com

Полякова Екатерина Александровна – мл. науч. сотрудник. Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии (ул. Фрунзенская, 43, 223053, Минский р-н, д. Боровляны, Республика Беларусь). E-mail: polyakovakat86@gmail.com

Белевцев Михаил Владимирович – канд. биол. наук, доцент, зам. директора по науке. Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии (ул. Фрунзенская, 43, 223053, Минский р-н, д. Боровляны, Республика Беларусь). E-mail: belevtcev_m@mail.ru

Алейникова Ольга Витальевна – член-корреспондент, д-р мед. наук, профессор. Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии (ул. Фрунзенская, 43, 223053, Минский р-н, д. Боровляны, Республика Беларусь). E-mail: aleinikova2004@mail.ru

Information about the authors

Irina E. Guryanova – Researcher. Belarusian Research Center for Pediatric Oncology, Hematology and Immunology (43, Frunzenskaya Str., v. Borovliany, 223053, Minsk Region, Republic of Belarus). E-mail: guryanovairina1985@gmail.com

Katsiaryna A. Paliakova – Junior researcher. Belarusian Research Center for Pediatric Oncology, Hematology and Immunology (43, Frunzenskaya Str., v. Borovliany, 223053, Minsk Region, Republic of Belarus). E-mail: polyakovakat86@gmail.com

Mikhail V. Belevtsev – Ph. D. (Biol.), Assistant Professor, Head of Research Department. Belarusian Research Center for Pediatric Oncology, Hematology and Immunology (43, Frunzenskaya Str., v. Borovliany, 223053, Minsk Region, Republic of Belarus). E-mail: belevtcev_m@mail.ru

Olga V. Aleynikova – Corresponding Member, D. Sc. (Med.), Professor. Belarusian Research Center for Pediatric Oncology, Hematology and Immunology (43, Frunzenskaya Str., v. Borovliany, 223053, Minsk Region, Republic of Belarus). E-mail: aleinikova2004@mail.ru

ISSN 1814-6023 (Print)
ISSN 2524-2350 (Online)

УДК 616.5-002.525.6:616-091.8
https://doi.org/10.29235/1814-6023-2019-16-3-357-364

Поступила в редакцию 04.04.2019
Received 04.04.2019

Ю. А. Кузьменко-Москвина[1], Т. А. Бич[2], З. Н. Брагина[2]

[1]Городское клиническое патологоанатомическое бюро, Минск, Республика Беларусь
[2]Белорусский государственный медицинский университет, Минск, Республика Беларусь

ПАТОМОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ГЕТЕРОГЕННОСТЬ ВУЛЬВАРНОГО СКЛЕРОАТРОФИЧЕСКОГО ЛИХЕНА

Аннотация. Вульварный склероатрофический лихен (САЛ) – распространенное хроническое мукокутанное заболевание, которое редко диагностируется своевременно и без должного лечения может прогрессировать.

В работе дана морфологическая характеристика вульварного САЛ с нетипичными гистологическими изменениями, которые общепринято считать характерными только для красного плоского лишая (КПЛ).

В ходе исследования биопсийного материала вульвы (n = 83) с морфологически диагностированным САЛ выявлены такие нетипичные признаки, как пилообразная перестройка покровного эпителия, фибриноидный некроз, наличие цитоидных телец и сателлитарного клеточного некроза, геморрагии, папилломатоз, милиумы, преимущественно плазмоцитарный воспалительный инфильтрат, формирование лимфоидных фолликулов, эластоз, ангиокератомаподобное изменение сосудов.

Частая пилообразная перестройка многослойного плоского эпителия, множественные цитоидные тельца и сателлитарный клеточный некроз на фоне САЛ описаны впервые в данном исследовании. Пилообразная перестройка эпидермиса, как правило, является проявлением вульварного САЛ. Перечисленные выше гистологические изменения не могут считаться однозначными критериями КПЛ при дифференциальной диагностике этих заболеваний.

Ключевые слова: вульва, склероатрофический лихен, пилообразная перестройка эпидермиса, цитоидные тельца, сателлитарный клеточный некроз

Для цитирования: Кузьменко-Москвина, Ю. А. Патоморфологическая гетерогенность вульварного склероатрофического лихена / Ю. А. Кузьменко-Москвина, Т. А. Бич, З. Н. Брагина // Вес. Нац. акад. навук Беларусі. Сер. мед. навук. – 2019. – Т. 16, № 3. – С. 357–364. https://doi.org/10.29235/1814-6023-2019-16-3-357-364

Y. A. Kuzmenka-Maskvina[1], T. A. Bich[2], Z. N. Bragina[2]

[1]City Clinical Pathology Bureau, Minsk, Republic of Belarus
[2]Belarusian State Medical University, Minsk, Republic of Belarus

MORPHOLOGICAL DIVERSITY OF VULVAR LICHEN SCLEROSUS

Abstract. Vulvar lichen sclerosus (LS) is a common chronic mucocutaneous disease, which is usually underdiagnosed and tend to progress without adequate treatment.

Morphological characteristics of vulvar LS with unusual histological features.

Vulvar biopsy material (n = 83) with morphologically diagnosed LS was examined histologically and statistically.

Often saw-toothed modification of the epithelium, fibrinoid necrosis, cytoid bodies, satellite cell necrosis, hemorrhages, papillomatosis, milia, predominantly plasma cell inflammatory infiltrate, lymphoid follicles, elastosis, angiokeratoma-like vasculare change were found on the background vulvar LS.

Saw-tooth epidermal change, multiple cytoid bodies and satellite cell necrosis are histological features of LS described for the first time in this study, the former being a frequent presentation of vulvar LS. The mentioned above histological changes cannot appear as features in favor of lichen planus in the differential diagnosis of these diseases.

Keywords: vulva, lichen sclerosus, saw-toothed epithelium, cytoid bodies, satellite cell necrosis

For citation: Kuzmenka-Maskvina Y. A., Bich T. A., Bragina Z. N. Morphological diversity of vulvar lichen sclerosus. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seriya meditsinskikh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2019, vol. 16, no. 3, pp. 357–364 (in Russian). https://doi.org/10.29235/1814-6023-2019-16-3-357-364

Введение. Склероатрофический лихен (САЛ) представляет собой распространенное хроническое идиопатическое заболевание, преимущественно вовлекающее кожу и слизистые оболочки генитальной области, проявляющееся белыми атрофичными пятнами и бляшками. Гистологически САЛ характеризуется выраженным роговым слоем, атрофией покровного многослойного плоского эпителия (МПЭ) и широкой полоской гомогенизированной соединительной ткани под

© Кузьменко-Москвина Ю. А., Бич Т. А., Брагина З. Н., 2019

ним. Без должного лечения САЛ склонен к распространению поражения, а также неопластической прогрессии.

Во всем мире и в Республике Беларусь в частности значимой остается проблема клинико-морфологической гиподиагностики вульварного САЛ. Сформированное поражение значительно легче диагностируется как врачами клинического профиля, так и патологоанатомами. Однако в ряде случаев, в особенности на ранних этапах САЛ, гистологическая картина дерматоза оказывается «смазанной». Нередко на фоне вульварного САЛ выявляются нетипичные для него гистологические изменения, существенно усложняющие морфологическую верификацию данного заболевания. Это требует от врачей смежных специальностей проведения дифференциальной диагностики со спектром схожих нозологических процессов.

Наиболее актуальной является дифференциальная диагностика ранней стадии вульварного САЛ и красного плоского лишая (КПЛ) вульвы. Заболевания имеют схожие клинические и гистологические признаки. Клиническими признаками являются вовлечение кожи и слизистых, наличие эрозий, гистологическими – наличие лимфоцитарного инфильтрата на границе эпидермиса и дермы, вариабельные изменения МПЭ, а также возможность ассоциации с плоскоклеточной карциномой (ПКК) [1]. Критерии, позволяющие проводить дифференциальную диагностику этих двух заболеваний, впервые были предложены M. A. Fung и P. E. LeBoit (1998) [2]. Из 68 случаев генитального САЛ ими были отобраны 9, имевших четкий переход от лихеноидной пограничной реакции к патогномоничному САЛ. Они были изучены с использованием дополнительного окрашивания, в том числе с применением панели антисыворотки к лимфоцитарным антигенам, и сравнены с 6 случаями генитального КПЛ. В воспалительную фазу САЛ выявлялись следующие признаки: псориазиформный лихеноидный паттерн (100 % САЛ, 0 % КПЛ), базальный экзоцитоз (78 % САЛ, 0 % КПЛ), потеря эластических волокон сосочков дермы (100 % САЛ, 33 % КПЛ), утолщение базальной мембраны (44 % САЛ, 0 % КПЛ), атрофия эпидермиса (33 % САЛ, 0 % КПЛ). В свою очередь при КПЛ наиболее частыми признаками являлись наличие множественных цитоидных телец (0 % САЛ, 100 % КПЛ), клиновидный гипергранулез (11 % САЛ, 100 % КПЛ), базальная сквамативация (22 % САЛ, 100 % КПЛ), заострение эпидермальных гребней (11 % САЛ, 83 % КПЛ) [2]. B. Patel с соавт. (2015) [1] в схожем исследовании также подчеркивают, что скудное количество цитоидных телец и отсутствие клиновидного гипергранулеза указывают скорее на наличие САЛ, а не КПЛ. По данным M. P. Hoang, M. A. Selim (2015) [3], выявление хотя бы очаговой пилообразной перестройки эпидермиса свидетельствует о диагнозе вульварного КПЛ и исключает САЛ.

Цель работы – дать морфологическую характеристику вульварного склероатрофического лихена с нетипичными гистологическими изменениями.

Материалы и методы исследования. Объектом изучения явился ретро- и проспективный биопсийный материал кожи и слизистой оболочки наружных гениталий у женщин, отобранный на базе УЗ «Городское клиническое патологоанатомическое бюро» г. Минска с 2012 по 2018 г. Материал был получен из 32 учреждений здравоохранения г. Минска. Кусочки фиксированы в 10 %-ном растворе нейтрального забуференного формалина, залиты в парафиновые блоки, серийно срезаны, помещены на предметные стекла и окрашены гематоксилином и эозином. Исследовано 509 препаратов вульвы, практически в половине из которых (48,5 %, $n = 247$) ретроспективно гистологически был диагностирован САЛ. Оставшиеся случаи включали гистологически подтвержденные дерматиты (КПЛ, вульвит Зуна, экзему, суммарно 6,7 %, $n = 34$), плоскоклеточное интраэпителиальное поражение (ПИП) (7,7 %, $n = 39$), плоскоклеточный рак (8,3 %, $n = 42$), другие процессы (28,9 %, $n = 147$). Репрезентативных наблюдений САЛ было выявлено 83 (83 пациента), в 10 из которых было выполнено дополнительное окрашивание орсеином. Критериями репрезентативности были: правильная ориентация кусочка, отсутствие обширных везикуло-буллезных и артифициальных изменений эпидермиса, размер препарата более 0,4 см. На один случай приходилось от 1 до 2 кусочков.

В случае ретроспективной оценки препаратов была выполнена реклассификация морфологических диагнозов в соответствии с последними клинико-морфологическими рекомендациями Международного Общества Исследований Заболеваний Вульвы и Влагалища (МОИЗВВ, 2015) [4]. Гистологический диагноз САЛ выставлялся при наличии в препарате ороговения покровного

МПЭ, вакуольной дегенерации базальных кератиноцитов (гидропическая дистрофия), утолщенной эпителиальной базальной мембраны, гомогенизации субэпителиальной ткани и хронической воспалительной инфильтрации. Под гомогенизацией понимали замещение субэпителиальной соединительной ткани аморфной стекловидной слабоэозинофильной массой, практически лишенной клеток, с рассеянными эктазированными тонкостенными сосудами и единичными ядрами фибробластов. Эпителиальная базальная мембрана считалась утолщенной, если она была гомогенной, эозинофильной и широкой (больше размера лимфоцита). Стадия САЛ считалась ранней при очаговой гомогенизации субэпителиальных отделов, поздней – при диффузной.

При исследовании материала анализировали изменения со стороны покровного эпителия, подлежащей соединительной ткани и сосудов, особенности состава воспалительного инфильтрата, а также состояние придатков кожи. Роговой слой считали выраженным при увеличении его толщины за счет компактного расположения клеток и потери им нормального вида по типу «плетеной корзины». Под атрофией подразумевали уменьшение общей толщины шиповатого слоя, под сглаженностью – потерю эпидермальных гребней при сохранении нормальной толщины шиповатого слоя, под акантозом – увеличение толщины МПЭ, преимущественно за счет мальпигиева слоя. Пилообразная перестройка (пилообразные изменения) МПЭ характеризовалась наличием неравномерно заостренного (наподобие «зубьев пилы») его нижнего края. Цитоидные, или коллоидные, тельца визуализировались как гомогенные эозинофильные глобулы в области дермо-эпидермального соединения (продукт апоптоза базальных кератиноцитов). Сателлитарный клеточный некроз заключался в апоптотическом кератиноците, окруженном одним или несколькими лимфоцитами. Волосяной фолликул, значительно эктазированный в области перешейка или стержня волоса, формирующий мелкую эпидермальную кисту, трактовался как милиум. Эластоз рассматривали как массивное отложение эластического материала в ретикулярном слое дермы. Ангиокератомаподобные изменения заключались в выраженной эктазии сосудов капиллярного типа, локализующихся в сосочках дермы непосредственно под МПЭ.

Кератиноциты в базальных отделах МПЭ были подразделены на следующие категории: без атипии, с атипией и реактивными изменениями. Базальный кератиноцит без атипии характеризовался овальной формой, скудной эозинофильной цитоплазмой, вытянутым ядром с плотно упакованным мелкодисперсным хроматином без четко видимого ядрышка. Атипия характеризовалась анизонуклеозом, ядерной гиперхромией, наличием кластеров (мелких групп) клеток со скудной цитоплазмой, ядерным гетеро- или эухроматином с хорошо видимым ядрышком. Реактивными изменениями считали появление видимого ядрышка в нормальном или увеличенном в размерах ядре и вариабельном количестве цитоплазмы. При постановке диагноза высокогрейдного ПИП (ВПИП) использовали критерии Классификации опухолей женских репродуктивных органов Всемирной Организации Здравоохранения 4-го пересмотра (ВОЗ, 2014) [5]. Экспрессию p16 (паттерн *block-type*) расценивали как положительную при непрерывном линейном горизонтальном окрашивании ядер и цитоплазмы базальных и супрабазальных отделов МПЭ. Окрашивание p53 ядер отдельных кератиноцитов в базальном или мальпигиевом слоях МПЭ в ярко-коричневый цвет интерпретировали как негативное (паттерн *wild type*). Индекс пролиферативной активности (Ki-67) трактовали повышенным в случаях, если экспрессия наблюдалась в большем количестве базальных и супрабазальных ядер кератиноцитов, чем в сравнительно интактном вульварном МПЭ.

Статистическую обработку проводили с помощью программы «Статистика 10», используя для качественной морфологической характеристики непараметрические показатели. Применяли χ^2, двусторонний вариант точного критерия Фишера по бинарному качественному признаку, логит-регрессию. Относительный риск возникновения пилообразной перестройки МПЭ, сателлитарного клеточного некроза и множественных цитоидных телец (признаки, впервые описанные в данном исследовании) рассчитывали в зависимости от других синхронных изменений в элементе САЛ.

Результаты исследования. В 2/3 наблюдений САЛ (суммарно 65,1 %, n = 54) обнаружены нетипичные гистологические признаки, затрагивающие МПЭ или подлежащие ткани (табл. 1). Эпителиальные изменения включали пилообразную перестройку покровного МПЭ, наличие цитоидных телец, папилломатоза, сателлитарного клеточного некроза. Среди других признаков отмечались фибриноидный некроз, диапедезные геморрагии, милиумы, преобладание плазмо-

цитов или эозинофилов в воспалительном инфильтрате, эластоз, формирование лимфоидных фолликулов, ангиокератомаподобные изменения сосудов. Как видно из табл. 1, описанные выше признаки встречались преимущественно на поздней гистологической стадии САЛ, в ассоциации со сглаженностью МПЭ, выраженным ороговением, дискератозом и реактивными изменениями, а также с поражением зоны с придатками кожи.

Т а б л и ц а 1. **Сравнительная морфологическая характеристика редких гистологических изменений в биопсийном материале вульварного САЛ, *n* (%)**

T a b l e 1. **Comparative morphological characteristics of vulvar lichen sclerosus unusual histological changes in the biopsy material, *n* (%)**

Критерий оценки (гистологические изменения)	Пилообразные изменения эпидермиса (25 (30,1))	Фибриноидный некроз (25 (30,1))	Цитоидные тельца (11 (3,3))	Геморрагии (10 (12,0))	Папилломатоз (7 (8,4))	Милиумы (7 (8,4))	Преимущественно плазмоцитарный инфильтрат (7 (8,4))	Сателлитарный клеточный некроз (5 (6,0))	Эластоз (4 (4,8))
Стадия:									
ранняя	5 (20)	6 (24)	4 (36,4)	1 (10)	4 (57,1)	0 (0)	2 (28,6)	2 (40)	0 (40)
поздняя	20 (80)*	19 (76)	7 (63,6)	9 (90)	3 (42,9)	7 (100)*	5 (71,4)	3 (60)	(100)
Зона:									
без придатков	12 (48)	12 (48)	6 (54,5)	2 (20)	1 (14,3)	0 (0)	3 (42,9)	4 (80)	3 (75)
с придатками	13 (52)	13 (52)	5 (45,5)	8 (80)*	6 (86)*	7 (100)*	4 (57,1)	1 (20)	1 (25)
МПЭ:									
сглаженность и атрофия	22 (88)*	21 (84)	7 (63,6)	8 (80)	5 (71,4)	6 (85,7)	5 (71,4)	4 (80)	2 (50)
акантоз	3 (12)	11 (44)*	4 (36,4)	2 (20)	2 (28,6)	1 (14,3)	2 (28,6)	1 (20)	1 (25)
пилообразность	–	13 (52)*	3 (27,3)	4 (40)	2 (28,6)	2 (28,6)	2 (28,6)	2 (40)	1 (25)
Дискератоз	16 (64)*	18 (72)*	6 (54,5)	6 (60)	6 (86)*	2 (28,6)	6 (86)*	4 (80)	1 (25)
Выраженный роговой слой	25 (100)	25 (100)*	10 (90)	9 (90)	6 (85,7)	7 (100)	6 (85,7)	4 (80)	3 (75)
Базальные кератиноциты:									
без атипии	1 (4)*	2 (8)	1 (9,1)	0 (0)	2 (28,6)	2 (28,6)	1 (14,3)	0 (0)	1 (25)
с реактивными изменениями	22 (88)*	17 (68)	8 (72,7)	9 (90)*	0 (0)	4 (57,1)	4 (57,1)	4 (80)	3 (75)
с атипией	2 (8)	5 (20)	2 (18,2)	0 (0)	2 (28,6)	0 (0)	0 (0)	1 (20)	0 (0)
ВПИП	0 (0)	1 (4)	0 (0)	1 (10)	3 (43)*	1 (14,3)	2 (29)*	0 (0)	0 (0)
Фибриноидный некроз	13 (52)*	–	5 (45,5)	6 (60)*	2 (28,6)	2 (28,6)	4 (57,1)	1 (20)	0 (0)

*$p < 0,05$.

Пилообразная перестройка МПЭ (рис. 1) определялась при вариабельной толщине покровного эпителия (от атрофии до акантоза), однако достоверно чаще – при его сглаженности. Как видно из табл. 1, данный признак был обнаружен в каждом третьем наблюдении (30,1 %, $n = 25$). Выявлена достоверная ассоциация пилообразного изменения эпителия с поздней стадией САЛ, наличием выраженного рогового слоя, реактивных изменений эпителия, дискератоза и фибриноидного некроза. При расчете относительного риска возникновения пилообразной перестройки МПЭ обнаружено, что вышеперечисленные морфологические признаки существенно его повышают (табл. 2).

Т а б л и ц а 2. **Риск возникновения пилообразной перестройки покровного многослойного плоского эпителия в зависимости от особенностей гистологического строения вульварного САЛ**

T a b l e 2. **Risk of saw-tooth epidermal change in dependence on the histological features of vulvar lichen sclerosus**

Гистологический признак	Относительный риск	Доверительный интервал
Диффузная гомогенизация	18,06	2,52–129,51
Сглаженность	7,33	2,34–22,93
Реактивные изменения	6,39	2,08–19,57
Лимфоидные фолликулы	4,96	2,07–11,84
Фибриноидный некроз	4,15	2,21–7,79
Дискератоз	3,38	1,69–6,74

Фибриноидный некроз коллагена в субэпителиальных отделах (табл. 1) отмечался в 1/3 случаев (30,1 %, $n = 25$), преимущественно при поздней стадии заболевания. Достоверно чаще этот признак сочетался с акантозом, пилообразной перестройкой МПЭ, дискератозом, выраженным роговым слоем, наличием лимфоидных фолликулов ($p = 0,00629$) и геморрагий ($p = 0,3586$).

Как видно из табл. 1, цитоидные тельца и сателлитарный клеточный некроз (рис. 2) оказались сравнительно редкими гистологическими изменениями в материале вульварного САЛ, достоверно чаще встречаясь одновременно. Первые были преимущественно множественными и дискретными (90,9 %, $n = 10$), в виде кластеров выявлены единожды (9 %) при поздней стадии САЛ. В целом и цитоидные тельца, и сателлитарный клеточный некроз чаще определялись при поздней стадии САЛ, в зоне без придатков кожи, в сочетании с выраженной кератинизацией, сглаженностью МПЭ, реактивными изменениями. Однако статистической значимости выявлено не было. Согласно расчетам, наличие воспалительного инфильтрата непосредственно под МПЭ увеличивает риск формирования цитоидных телец в 3,85 раза (доверительный интервал (ДИ) 0,52–28,27), а наличие дискератоза повышает вероятность сателлитарного клеточного некроза в 5,75 раза (ДИ 0,67–49,24).

Диапедезные геморрагии (см. табл. 1) выявлены в 12 % случаев ($n = 10$), главным образом при поздней стадии САЛ, достоверно чаще – в зоне с наличием придатков кожи, реактивными изменениями эпителия, фибриноидным некрозом и лимфоидными фолликулами ($p = 0,02$). Папилломатоз (рис. 3), воспалительный (преимущественно плазмоцитарный) инфильтрат и милиумы (рис. 4) при САЛ наблюдались в 7,2 % случаев ($n = 7$) каждый. Статистически значимая связь первых двух признаков обнаружена с дискератозом и ВПИП. Ассоциированное с вульварным САЛ ПИП (см. табл. 1) выявлено в 3,6 % наблюдений ($n = 3$) в форме высокогрейдного поражения. В 2 из них обнаружен p16-положительный (block-type) и p53-отрицательный (wild type) иммунофенотип с высоким Ki-67 (на всю толщу МПЭ), что указывает на присутствие в эпителии вируса папилломы человека (ВПЧ). Папилломатоз и милиумы достоверно чаще отмечались в зоне с наличием придатков кожи. Милиумы часто наблюдались при поздней стадии САЛ, в сочетании с перифолликулярной локализацией воспалительного инфильтрата (100 %, $n = 7$, $p = 0,00001$), недержанием пигмента (100 %, $n = 7$, $p = 0,00174$) и геморрагиями (42,9 %, $n = 3$, $p = 0,02870$), что оказалось статистически значимым.

Как видно из табл. 1, эластоз (4,8 %, $n = 4$) (рис. 5), формирование лимфоидных фолликулов (3,6 %, $n = 3$) и большое количество эозинофилов в воспалительном инфильтрате (2,4 %, $n = 2$) отмечались крайне редко, причем только при поздней стадии САЛ. Следует отметить, что большое

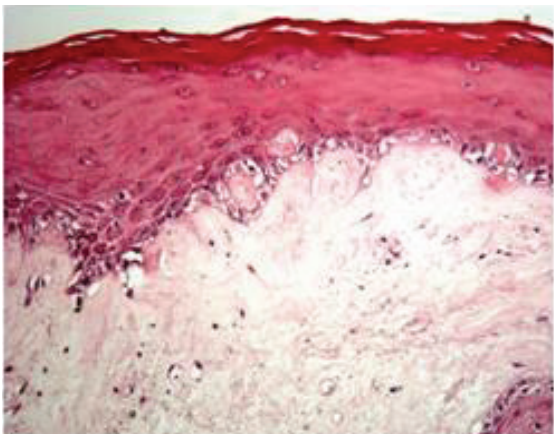


Рис. 1. Ранний элемент САЛ: пилообразная перестройка МПЭ. Окраска гематоксилином и эозином, ×200

Fig. 1. Early stage of LS: saw-tooth change of the surface squamous epithelium. Hematoxylin and eosin staining, ×200

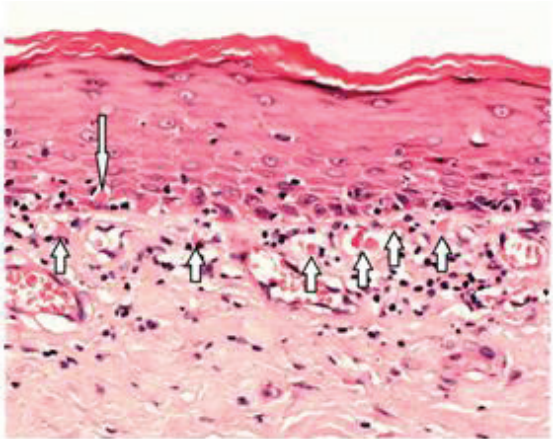


Рис. 2. Ранний элемент САЛ: цитоидные тельца (короткая стрелка) и сателлитарный клеточный некроз (длинная стрелка). Окраска гематоксилином и эозином, ×400

Fig 2. Early stage of LS: cytoid bodies (short arrow) and satellite cell necrosis (long arrow). Hematoxylin and eosin staining, ×400

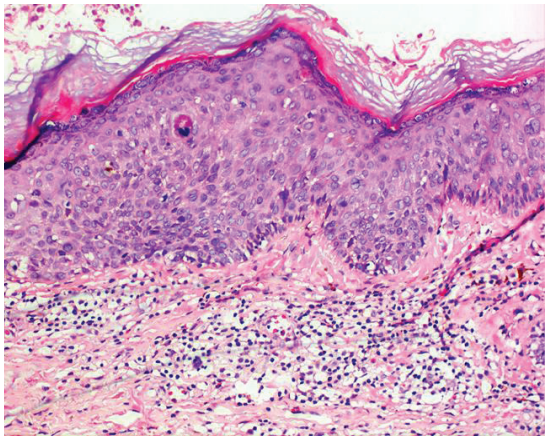


Рис. 3. САЛ ранней стадии: ассоциированное ВПИП, папилломатоз, дискератоз. Окраска гематоксилином и эозином, ×200

Fig. 3. Early stage of LS: associated HSIL, papillomatosis, dyskeratosis. Hematoxylin and eosin staining, ×200

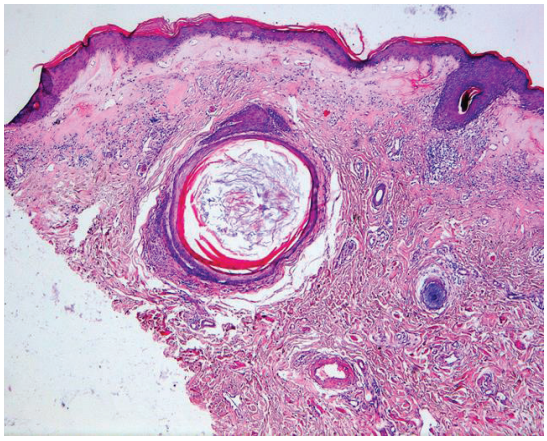


Рис. 4. САЛ поздней стадии: милиум. Окраска гематоксилином и эозином, ×25

Fig. 4. Advanced stage of LS: milium. Hematoxylin and eosin staining, ×25

количество эозинофилов отмечалось при наличии базальной атипии. В одном наблюдении САЛ ранней стадии (1,2 %) сосуды были изменены по типу ангиокератомы (рис. 6).

Обсуждение. Впервые в данном исследовании на фоне вульварного САЛ описаны такие гистологические признаки, как пилообразная перестройка покровного МПЭ, наличие множественных цитоидных телец и сателлитарный клеточный некроз. Обнаружение вышеперечисленных признаков не позволяет морфологически исключить диагноз САЛ в пользу КПЛ. Выявленная в настоящем исследовании пилообразная перестройка покровного МПЭ при вульварном САЛ является частым проявлением дерматоза. Достоверная ассоциация этого признака с поздней стадией САЛ, реактивными изменениями, дискератозом и фибриноидным некрозом указывает на высокую вероятность его гипоксического и дисрегенераторного генеза. Множественные цитоидные тельца и сателлитарный клеточный некроз могут быть обусловлены пролонгированным медиаторным (цитокиновым) и цитотоксическим воздействием Т-лимфоцитов воспалительного инфильтрата на кератиноциты.

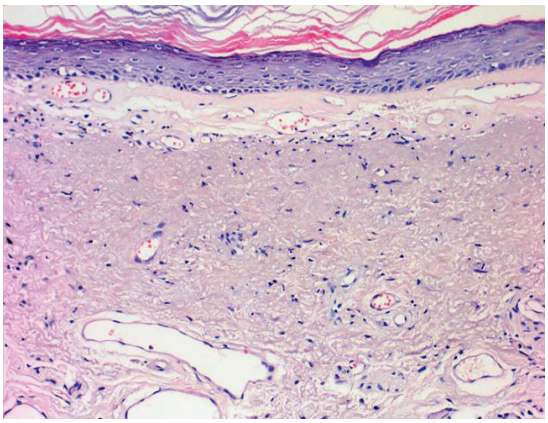


Рис. 5. САЛ поздней стадии: эластический невус. Окраска гематоксилином и эозином, ×100

Fig. 5. Advanced stage of LS: nevus elasticus. Hematoxylin and eosin staining, ×100

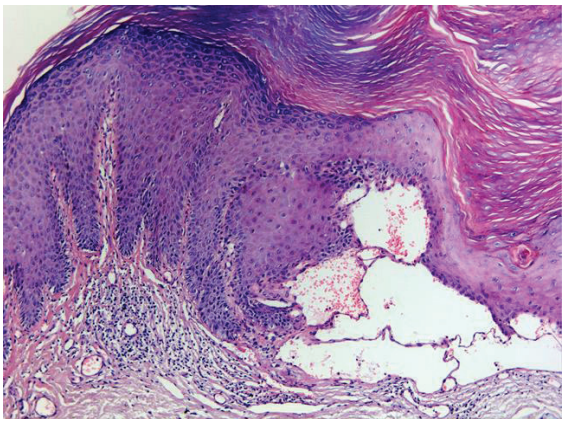


Рис. 6. САЛ ранней стадии: ангиокератомаподобное изменение сосудов. Окраска гематоксилином и эозином, ×100

Fig. 6. Early stage of LS: angiokeratoma-like vascular change. Hematoxylin and eosin staining, ×100

Кроме того, в приведенной работе впервые выявлена корреляция папилломатоза и преимущественно плазмоцитарного характера воспалительного инфильтрата с ВПИП, наличия милиумов – с поздней стадией дерматоза, периваскулярным воспалительным инфильтратом, недержанием пигмента и диапедезными геморрагиями. Можно предположить, что ассоциация милиумов с поздней стадией САЛ обусловлена длительным существованием элемента поражения САЛ, нарастанием фолликулярного гиперкератоза, с одной стороны, и повреждением придатков кожи клетками воспаления – с другой. Говоря о ВПИП, с морфологической точки зрения папилломатоз можно рассматривать в контексте тканевой дисплазии МПЭ. Превалирование плазмоцитов в инфильтрате при ВПИП, возможно, обусловлено нарушением гуморального иммунного механизма.

Наличие диапедезных геморрагий, лимфоидных фолликулов, ангиокератомаподобной перестройки сосудов, вероятно, также можно связать с длительным гипоксическим эффектом. Элиминация эластических волокон из субэпителиальных отделов соединительной ткани с аккумуляцией последних в ретикулярном слое может отражать процесс репарации соединительной ткани в САЛ (Shiba с соавт., 2014) [6]. В ряде случаев, когда наблюдается повышенная концентрация эластических волокон, морфологи расценивают это как эластический невус [7]. О связи базальной атипии с большой примесью эозинофилов в инфильтрате свидетельствуют ранее опубликованные данные. Так, согласно E. B. Lester с соавт. [8], большое количество эозинофилов в САЛ является прогностически значимым фактором в отношении сосуществующей ПКК ($p = 0{,}014$).

Заключение. На фоне вульварного САЛ могут определяться многочисленные нетипичные гистологические изменения, выявление которых не должно вводить патологоанатома в замешательство. Впервые в данном исследовании прослежена корреляция между милиумами и поздней стадией САЛ, перифолликулярным воспалительным инфильтратом, недержанием пигмента и диапедезными геморрагиями. Кроме того, впервые на фоне вульварного САЛ описаны такие гистологические изменения, как пилообразная перестройка покровного МПЭ, наличие цитоидных телец (в том числе в кластерах) и сателлитарный клеточный некроз. В доступной литературе эти признаки рассматриваются как присущие исключительно КПЛ, а не САЛ. Пилообразная перестройка покровного МПЭ при САЛ, в отличие от КПЛ, достоверно чаще наблюдается на фоне сглаженности эпидермиса и является частой презентацией дерматоза. Опираясь на результаты проведенного исследования, единственным доказательством различия между вышеупомянутыми заболеваниями является наличие очаговой гомогенизации субэпителиальной соединительной ткани наряду с локальным утолщением эпидермальной базальной мембраны.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список использованных источников

1. Patel, B. Extra genital lichen sclerosus et atrophicus with cutaneous distribution and morphology simulating lichen planus / B. Patel, R. Gupta, V. R. Vora // Indian J. Dermatol. – 2015. – Vol. 60, N 1. – P. 105. https://doi.org/10.4103/0019-5154.147873

2. Fung, M. A. Light microscopic criteria for the diagnosis of early vulvar lichen sclerosus. A comparison with lichen planus / M. A. Fung, P. E. LeBoit // Am. J. Surg. Pathol. – 1998. – Vol. 22, N 4. – P. 473–478. https://doi.org/10.1097/00000478-199804000-00013

3. Hoang, M. P. Vulvar pathology / M. P. Hoang, M. A. Selim. – New York : Springer Science+Business Media, 2015. – 505 p.

4. The 2015 International Society for the Study of Vulvovaginal Disease (ISSVD) Terminology of Vulvar Squamous Intraepithelial Lesions / J. Bornstein [et al.] // J. Lower Genital Tract Dis. – 2016. – Vol. 20, N 1. – P. 11–14. https://doi.org/10.1097/lgt.0000000000000169

5. WHO Classification of Tumours of Female Reproductive Organs / C. P. Crum [et al.]. – 4th ed. – Lyon : IARC Press, 2014. – 309 p.

6. Increase of elastic fibers in lichen sclerosus et atrophicus. / Y. Shiba [et al.] // J. Cutan. Pathol. – 2014. – Vol. 41, N 8. – P. 646–649. https://doi.org/10.1111/cup.12342

7. Lichen sclerosus on the penis associated with striking elastic fibers accumulation (nevus elasticus) and differentiated penile intraepithelial neoplasia progressing to invasive squamous cell carcinoma / D. Kacerovska [et al.] // JAAD Case Rep. – 2015. – Vol. 1, N 3. – P. 163–165. https://doi.org/10.1016/j.jdcr.2015.03.004

8. Lester, E. B. Eosinophils in biopsy specimens of lichen sclerosus: a not uncommon finding / E. B. Lester, B. L. Swick // J. Cutan. Pathol. – 2015. – Vol. 42, N 1. – P. 16–21. https://doi.org/10.1111/cup.12445

References

1. Patel B., Gupta R., Vora V. R. Extra genital lichen sclerosus et atrophicus with cutaneous distribution and morphology simulating lichen planus. *Indian Journal of Dermatology*, 2015, vol. 60, no. 1, p. 105. https://doi.org/10.4103/0019-5154.147873

2. Fung M. A., LeBoit P. E. Light microscopic criteria for the diagnosis of early vulvar lichen sclerosus. A comparison with lichen planus. *American Journal of Surgical Pathology*, 1998, vol. 22, no. 4, pp. 473–478. https://doi.org/10.1097/00000478-199804000-00013

3. Hoang M. P., Selim M. A. *Vulvar pathology*. New York, Springer Science+Business Media, 2015. 505 p.

4. Bornstein J., Bogliatto F., Haefner H. K., Stockdale C. K., Preti M., Bohl T. G., Reutter J. The 2015 International Society for the Study of Vulvovaginal Disease (ISSVD) Terminology of Vulvar Squamous Intraepithelial Lesions. *Journal of Lower Genital Tract Disease*, 2016, vol. 20, no. 1, pp. 11–14. https://doi.org/10.1097/lgt.0000000000000169

5. Crum C. P., Herrington C. S., McCluggage W. G., Young R. H. *WHO Classification of Tumours of Female Reproductive Organs. 4th ed*. Lyon, IARC Press, 2014. 309 p.

6. Shiba Y., Ono K., Akiyama M., Fujimoto N., Tajima S. Increase of elastic fibers in lichen sclerosus et atrophicus. *Journal of Cutaneous Pathology*, 2014, vol. 41, no. 8, pp. 646–649. https://doi.org/10.1111/cup.12342

7. Kacerovska D., Michal M., Hora M., Hadravsky L., Kazakov D. V. Lichen sclerosus on the penis associated with striking elastic fibers accumulation (nevus elasticus) and differentiated penile intraepithelial neoplasia progressing to invasive squamous cell carcinoma. *JAAD Case Reports*, 2015, vol. 1, no. 3, pp. 163–165. https://doi.org/10.1016/j.jdcr.2015.03.004

8. Lester E. B., Swick B. L. Eosinophils in biopsy specimens of lichen sclerosus: a not uncommon finding. *Journal of Cutaneous Pathology*, 2015, vol. 42, no. 1, pp. 16–21. https://doi.org/10.1111/cup.12445

Информация об авторах

Кузьменко-Москвина Юлия Александровна – врач-патологоанатом. Городское клиническое патологоанатомическое бюро (ул. Семашко, 8/8, 220045, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: yuliya.k.moskvina@gmail.com

Бич Татьяна Александровна – канд. мед. наук, доцент. Белорусский государственный медицинский университет (пр. Дзержинского, 83, 220116, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: BichTatjana@gmail.com

Брагина Зоя Николаевна – канд. мед. наук, доцент. Белорусский государственный медицинский университет (пр. Дзержинского, 83, 220116, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: Z.N.Bragina@gmail.com

Information about the authors

Yuliya A. Kuzmenka-Maskvina – Pathologist. City Clinical Pathology Bureau, 8/8, Semashko Str., Minsk, Republic of Belarus). E-mail: yuliya.k.moskvina@gmail.com

Tatjana A. Bich – Ph. D. (Med.), Assistant professor. Belarusian State Medical University (83, Dzerzhynskii Ave., 220116, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: BichTatjana@gmail.com

Zoya N. Bragina – Ph. D. (Med.), Assistant professor. Belarusian State Medical University (83, Dzerzhynskii Ave., 220116, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: Z.N.Bragina@gmail.com

ISSN 1814-6023 (Print)
ISSN 2524-2350 (Online)

УДК 612.123:615.35
https://doi.org/10.29235/1814-6023-2019-16-3-365-372

Поступила в редакцию 07.03.2019
Received07.03.2019

И. А. Полуян, В. В. Зинчук, С. В. Глуткин, И. Э. Гуляй

Гродненский государственный медицинский университет, Гродно, Республика Беларусь

ЭФФЕКТ МЕЛАТОНИНА НА ПРООКСИДАНТНО-АНТИОКСИДАНТНЫЙ БАЛАНС ПРИ ФИЗИЧЕСКОЙ НАГРУЗКЕ У ЛИЦ С НИЗКИМ УРОВНЕМ ФИЗИЧЕСКОГО СОСТОЯНИЯ

Аннотация. Исследовано влияние мелатонина на прооксидантно-антиоксидантный баланс у лиц мужского пола с низким уровнем физического состояния при выполнении ими субмаксимальной физической нагрузки. Испытуемые принимали мелатонин по 3 мг 1 раз в сутки в течение 2 мес. В результате применения данного препарата отмечалось снижение активности процессов перекисного окисления липидов и повышение уровня антиоксидантной защиты в плазме крови и эритроцитах после физической нагрузки, что способствовало уменьшению проявлений окислительного стресса и сохранению прооксидантно-антиоксидантного баланса организма.

Ключевые слова: физическая нагрузка, мелатонин, перекисное окисление липидов, антиоксиданты

Для цитирования: Эффект мелатонина на прооксидантно-антиоксидантный баланс при физической нагрузке у лиц с низким уровнем физического состояния / И. А. Полуян [и др.] // Вес. Нац. акад. навук Беларусі. Сер. мед. навук. – 2019. – Т. 16, № 3. – С. 365–372. https://doi.org/10.29235/1814-6023-2019-16-3-365-372

I. A. Poluyan, V. V. Zinchuk, S. V. Hlutkin, I. E. Huliai

Grodno State Medical University, Grodno, Republic of Belarus

INFLUENCE OF MELATONIN ON THE PROOXIDANT–ANTIOXIDANT BALANCE AT PHYSICAL EXERTION IN PEOPLE WITH A LOW-LEVEL PHYSICAL STATE

Abstract. The influence of melatonin on the prooxidant–antioxidant balance in 18 to 21 year-old males with a low-level physical state at submaximal physical exertion is considered. The studied group took melatonin 3 mg once a day for 2 months. As a result of taking melatonin after physical exertion, there is a decrease in the activity of processes of peroxide oxidation of lipids and a high level of antioxidant protection in the blood plasma and erythrocytes, which diminishes the manifestations of the oxidative stress and maintains the prooxidant–antioxidant balance of an organism.

Keywords: physical exertion, melatonin, lipid peroxidation, antioxidants

For citation: Poluyan I. A., Zinchuk V. V., Hlutkin S. V., Huliai I. E. Influence of melatonin on the prooxidant–antioxidant balance at physical exertion in people with low-level physical state. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seriya meditsinskikh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2019, vol. 16, no. 3, pp. 365–372 (in Russian). https://doi.org/10.29235/1814-6023-2019-16-3-365-372

Введение. Одной из актуальных проблем спортивной медицины является адаптация человека к физической нагрузке (ФН). Возникающее при интенсивных физических мышечных упражнениях несоответствие кислородного запроса его текущему потреблению приводит к усиленному образованию активных форм кислорода с последующим ростом свободнорадикальных процессов в тканях [1]. Рост образования продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) свидетельствует о снижении активности антиоксидантной системы (АОС), ее ферментативных и неферментативных компонентов. Нарушение прооксидантно-антиоксидантного баланса в сторону существенного преобладания конечных продуктов окислительной модификации макромолекул является одним из факторов, лимитирующих физическую работоспособность и усиливающих риск развития преморбидных и патологических состояний организма путем изменения физико-химических свойств клеточных мембран, активности мембраносвязанных и липидзависимых ферментов (Na+,K+-АТФ-аза, 5′-нуклеотидаза и др.), регуляции реактивности нейроэндокринной и иммунной систем [2]. Исследование антиоксидантного статуса и поиск эффективных мер защиты от окислительного стресса в условиях ФН представляет важное направление в профилактике заболеваний сердечно-сосудистой, дыхательной и других систем организма [3].

Эпифиз является уникальным адаптогенным органом, обеспечивающим приспособление организма к меняющимся условиям внешней и внутренней среды. Синтезируемый в нем мелатонин обеспечивает защиту от неблагоприятных последствий стрессорного воздействия [4], оказывая регулирующее, адаптогенное действие на многие функции [5].

Цель настоящего исследования – оценить эффект мелатонина на прооксидантно-антиоксидантный баланс у лиц мужского пола с низким уровнем физического состояния при выполнении ими субмаксимальной физической нагрузки.

Материалы и методы исследования. Объектом исследования были лица мужского пола в возрасте 18–21 года (n = 24) с низким уровнем физического состояния (≤0,375), которое определяли по методике Е. А. Пироговой [6]. Испытуемые были разделены на две группы: контрольную (n = 24) и опытную (n = 24). В опытной группе пациенты принимали препарат «Вита-мелатонин» по 3 мг 1 раз в сутки за 30 мин до сна в течение 2 мес., обследуемые контрольной группы в такой же форме и по аналогичной схеме получали плацебо (0,5 мг глюкозы). У пациентов в первой половине дня (с 8 до 10 ч) производили забор 8,0 мл крови из кубитальной вены до и после субмаксимальной ФН в начале и после приема курса мелатонина. Тест PWC_{170} на велотренажере выполнялся в объеме двух нагрузок по 5 мин с интервалом между ними 3 мин и частотой педалирования 60 об/мин. Мощность первой нагрузки подбирали в зависимости от возраста и массы тела участника исследования, мощность второй нагрузки определяли исходя из силы и частоты сердечных сокращений в конце первой нагрузки [7]. Исследования были проведены в двухмесячный период, середина которого пришлась на весеннее равноденствие. Все манипуляции в ходе исследования проводили с разрешения комитета по биомедицинской этике учреждения образования «Гродненский государственный медицинский университет». Добровольное участие испытуемые подтверждали письменным информированным согласием.

Содержание конъюгированных диеновых структур гидроперекисей липидов оценивали по интенсивности УФ-поглощения при длине волны 233 нм, используя спектрофотометр Solar СМ 2203 [8]. Содержание малонового диальдегида (МДА) в плазме крови и эритроцитах определяли по интенсивности окраски комплекса розового цвета, образованного в реакции с 2′-тиобарбитуровой кислотой, при длине волны 535 нм, используя спектрофотометр Solar PV1251C [9]. Содержание восстановленного глутатиона в эритроцитах измеряли спектрофотометрически по модифицированному методу J. Sedlak и R. Lindsay, позволяющему оценить реакцию взаимодействия SH-групп глутатиона с 5,5′-дитиобис (2-нитробензойной кислотой), которая способна поглощать свет при длине волны 412 нм [10]. Содержание α-токоферола и ретинола определяли по интенсивности флуоресценции гексанового экстракта: для α-токоферола при длине волны возбуждения 286 нм и длине волны испускания 330 нм, для ретинола при длине волны возбуждения 325 нм и длине волны испускания 470 нм [11]. В качестве стандарта использовали α-токоферол и ретинол фирмы Sigma. Уровень церулоплазмина определяли методом Равина, который основан на окислении *p*-фенилендиамина при участии церулоплазмина. Интенсивность окраски оценивали спектрофотометрически при длине волны 530 нм [12]. Активность каталазы в эритроцитарной массе регистрировали по количеству окрашенного продукта в реакции перекиси водорода с солями молибдена, который фотометрировали при длине волны 410 нм на Solar PV1251C [13].

Для статистической обработки цифровых данных использовали программу Statistica 6.0. Нормальность распределения полученных результатов оценивали по критерию Шапиро–Уилка. Данные, имеющие нормальное распределение, представлены в виде среднего значения ± среднего квадратического отклонения, при этом для определения статистической значимости различий использовали *t*-критерий Стьюдента для зависимых выборок. Данные, имеющие распределение, отличающееся от нормального, представлены в виде медианы (25–75-й процентиль); в этом случае для определения статистической значимости различий использовали критерий парных сравнений Вилкоксона. Результаты считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение. Изучение активности процессов ПОЛ у лиц контрольной группы показало (рис. 1), что после ФН отмечается повышение как уровня диеновых конъюгатов (ДК) (в эритроцитах на 19,8 % ($p < 0,01$),в плазме крови на 68,8 % ($p < 0,001$)), так и уровня МДА

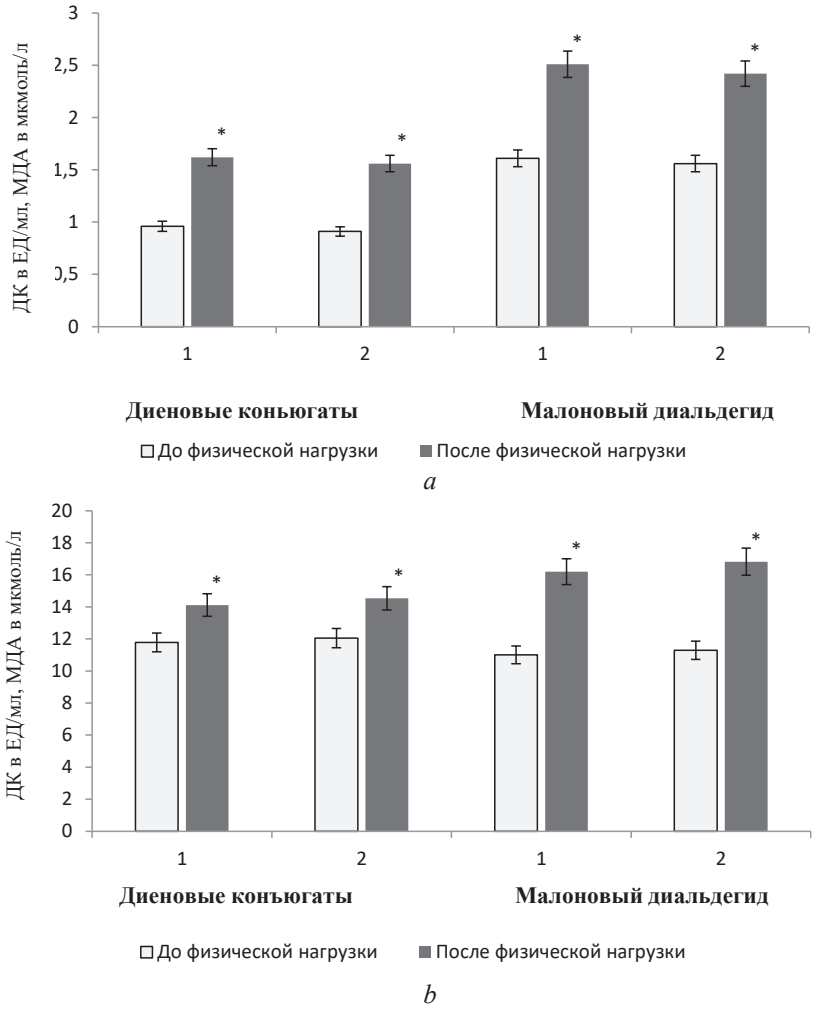


Рис. 1. Эффект физической нагрузки на содержание диеновых конъюгатов (ЕД/мл) и малонового диальдегида (мкмоль/л) в плазме крови (*a*) и эритроцитах (*b*) у лиц с низким уровнем физического состояния (контрольная группа): значения исходные (*1*) и через 2 мес. (*2*). * – различия статистически значимы ($p < 0,05$) по отношению к значениям до нагрузки

Fig. 1. Influence of physical exertion on the content of conjugated diene (U/ml) and malondialdehyde (μmole/l) in the blood plasma (*a*) and erythrocytes (*b*) in people with low-level physical state (control group): initial data (*1*) and data in 2 months (*2*). * – the differences are statistically significant ($p < 0.05$) as compared to the findings before physical exertion

(в эритроцитах на 47,1 % ($p < 0,001$),в плазме крови на 55,9 % ($p < 0,001$)). Кроме того, наблюдалось изменение потенциала антиоксидантной защиты (табл. 1): снижение в эритроцитах концентрации восстановленного глутатиона на 21,2 % ($p < 0,01$) и увеличение активности каталазы на 2,8 % ($p < 0,05$). В плазме крови выявлено уменьшение концентрации α-токоферола на 22,1 % ($p < 0,01$), ретинола на 42,7 % ($p < 0,001$) и увеличение концентрации церулоплазмина на 12,2 % ($p < 0,05$). Близкий характер изменения прооксидантно-антиоксидантного баланса отмечался и через 2 мес. исследования, достоверных различий этих параметров в эти периоды не выявлено.

В табл. 2 и на рис. 2 представлены данные, отражающие эффект приема репарата «Витамелатонин» на состояние прооксидантно-антиоксидантного равновесия до и после ФН. В начале исследования достоверных различий в опытной и контрольной группах как до, так и после ФН не выявлено. Отмечалось увеличение уровней ДК (в эритроцитах на 21,1 % ($p < 0,01$), в плазме крови на 30,5 % ($p < 0,005$)) и МДА (в эритроцитах на 45,4 % ($p < 0,001$), в плазме крови на 55,8 % ($p < 0,001$)). Кроме того, одновременно с повышением активности свободнорадикальных процессов при ФН наблюдалось снижение в эритроцитах концентрации восстановленного глутатиона на 21,3 % ($p < 0,05$) и увеличение активности каталазы на 3,8 % ($p < 0,05$). В плазме

Т а б л и ц а 1. **Эффект физической нагрузки на антиоксидантную систему крови лиц контрольной группы (*n* = 24) с низким уровнем физического состояния**

T a b l e 1. **Effect of physical exertion on the blood antioxidant system in people of control group (*n* = 24) with the low level of a physical condition**

Показатель		До приема мелатонина		Через 2 мес. после приема мелатонина	
		до физической нагрузки	после физической нагрузки	до физической нагрузки	после физической нагрузки
Восстановленный глутатион, мкмоль/гНв	Эритроциты	30,53 (26,72–31,85)	24,07* (19,64–27,09)	29,93 (25,79–31,34)	23,86* (19,94–27,02)
Каталаза, ммоль H_2O_2/мин/гНв	Эритроциты	25,44 (21,96–26,71)	26,15* (24,53–28,22)	25,98 (22,64–27,40)	26,43* (24,82–28,62)
Церулоплазмин, 10 мг/л	Плазма крови	22,08 (18,90–24,45)	24,78* (22,16–26,25)	21,71 (19,80–23,80)	24,16* (21,15–27,40)
α-Токоферол, мкмоль/л	Плазма крови	14,43 (13,15–16,45)	11,25* (10,10–12,89)	14,07 (12,06–17,82)	11,01* (9,18–14,58)
Ретинол, мкмоль/л	Плазма крови	2,06 (1,81–2,19)	1,18* ±0,05	2,08 (1,67–2,31)	1,12* (0,96–1,19)

П р и м е ч а н и е. * – различия статистически значимы ($p < 0,05$) по отношению к значениям до нагрузки.

Т а б л и ц а 2. **Эффект мелатонина на содержание диеновых конъюгатов и малонового диальдегида в крови лиц с низким уровнем физического состояния (*n* = 24) при выполнении физической нагрузки**

T a b l e 2. **Influence of melatonin on the content of conjugated diene and malondialdehyde in blood on physical exertion in people (*n* = 24) with low-level physical state**

Показатель		До приема мелатонина		Через 2 мес. после приема мелатонина	
		до физической нагрузки	после физической нагрузки	до физической нагрузки	после физической нагрузки
Диеновые конъюгаты, Ед/мл	Плазма крови	1,04 (0,89–1,15)	1,74* (1,19–1,86)	0,95 (0,81–1,16)	1,38*#^ (1,17–1,49)
Малоновый диальдегид, мкмоль/л	Плазма крови	1,56 (1,39–1,98)	2,43* (2,01–2,68)	1,54 (1,24–1,78)	1,98*#^ (1,74–2,19)
Диеновые конъюгаты, Ед/мл	Эритроциты	11,98 (10,72–14,06)	14,51* (12,22–16,08)	11,63 (10,14–13,49)	13,61*#^ (12,18–14,84)
Малоновый диальдегид, мкмоль/л	Эритроциты	11,06 (9,80–12,53)	16,08* (14,91–17,74)	10,85 (9,09–12,43)	13,98*#^ (12,16–14,92)

П р и м е ч а н и е. Статистическая значимость различий ($p < 0,05$): * – по отношению к значениям до нагрузки; # – к исходным значениям; ^ – к значениям аналогичного периода у лиц контрольной группы.

крови выявлено снижение концентрации α-токоферола на 23,8 % ($p < 0,005$), ретинола на 44,9 % ($p < 0,001$) и увеличение уровня церулоплазмина на 10,5 % ($p < 0,005$).

После проведенного курса приема мелатонина наблюдался незначительный рост уровня ДК (в эритроцитах на 17,0 % ($p < 0,01$), в плазме крови на 45,3 % ($p < 0,001$)) и МДА (в эритроцитах на 28,9 % ($p < 0,001$), в плазме крови на 28,6 % ($p < 0,001$)). Снижение в эритроцитах концентрации восстановленного глутатиона (на 15,9 %, $p < 0,01$), как и увеличение активности каталазы (на 11,0 %, $p < 0,01$), было менее выраженным, чем в исходных данных. В плазме крови выявлено меньшее снижение концентрации α-токоферола (на 15,1 %, $p < 0,01$), ретинола (на 31,9 %, $p < 0,001$) и большее увеличение уровня церулоплазмина (на 26,4 %, $p < 0,001$), чем во время первого исследования, а также в сравнении со значениями за аналогичный период в контрольной группе.

Адаптация к мышечной деятельности требует непрерывной перестройки внутренних связей между различными системами, изменения их активности и быстрого регулирования их функционирования. Интенсивные физические упражнения обусловливают рост количества активных форм кислорода и азота, а производство свободных радикалов в работающих мышцах при самых

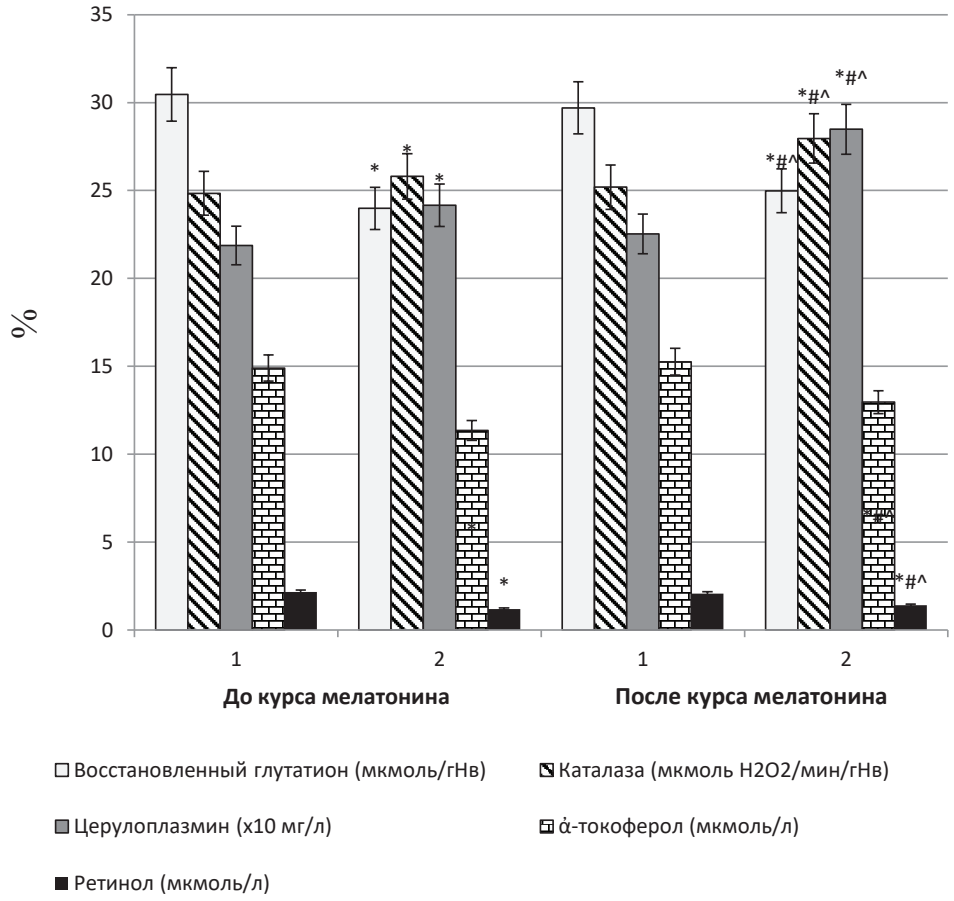


Рис. 2. Эффект мелатонина на антиоксидантную систему крови при выполнении физической нагрузки у лиц с низким уровнем физического состояния: значения до (*1*) и после (*2*) физической нагрузки. Статистическая значимость различий ($p < 0,05$): * – по отношению к значениям до нагрузки; # – к исходным значениям; ^ – к значениям аналогичного периода у лиц контрольной группы

Fig. 2. Influence of melatonin on the blood antioxidant system at physical exertion in people with low-level physical state: the findings are before (*1*) and after (*2*) physical exertion. Statistically significant differences ($p < 0.05$): * – in relation to the findings before physical exertion; # – in relation to the initial research results; ^ – to the results of the same period in control group people

сильных нагрузках возрастает в десятки раз [14]. Окислительный стресс, вызываемый ФН в скелетных мышцах, влечет за собой различные изменения функциональных свойств мышечных волокон [15]. Относительно слабые сдвиги в сторону увеличения образования свободных радикалов приводят к адаптивным изменениям антиоксидантного механизма мышц, но сильные окислительные сдвиги могут быть причиной повреждения мембранных структур, ответственных за реализацию сократительной функции [16]. В условиях относительной гипоксии при ФН активация ПОЛ ограничена, что обеспечивается постоянным функционированием достаточно надежной АОС, которая противодействует липопероксидации во всех звеньях [17]. Однако, как видно из нашей работы, у лиц мужского пола с низким уровнем физического состояния они вызывают значительную активацию ПОЛ. Сопутствующая тканевая гипоксия при ФН является одним из определяющих факторов для активации процессов ПОЛ, выраженность которого в значительной степени зависит от направленности механизмов АОС. Это позволяет расценивать степень окислительного стресса как один из дополнительных маркеров адаптации. При ФН помимо замедления транспорта кислорода в ткани наблюдается также образование большого количества лактата, поступающего из миоцитов в кровь, что запускает целый каскад разнообразных метаболических и физиологических процессов, в частности активацию процессов ПОЛ, приводящую к нарушению прооксидантно-антиоксидантного баланса. Устранение последнего возможно через усиление ресурсов антиоксидантной защиты.

Как видим, при использовании мелатонина наблюдается снижение свободнорадикального окисления и повышение антиоксидантного потенциала организма в условиях выполнения физических упражнений. Мелатонин, с одной стороны, проявляет прямые антиоксидантные свойства, выступая в роли «ловушки» свободных радикалов: $^{\cdot}OH$, $O_2^{\cdot}$, $HO_2^{\cdot}$, радикала NO ($NO^{\cdot}$), пероксинитрита и др., и подавляет активность процессов ПОЛ, в силу чего, с одной стороны, превосходит по активности многие известные антиоксиданты – глутатион, α-токоферол, аскорбиновую кислоту, а с другой – может усиливать активность ферментов АОС (супероксиддисмутазы, каталазы, глутатионпероксидазы и др.) и повышать их уровень, превосходя по силе действия естественный антиоксидант – α-токоферол [18, 19]. Защитное действие мелатонина реализуется через различные механизмы, такие как непосредственная нейтрализация свободных радикалов; образование продуктов метаболизма мелатонина, обладающих антиоксидантной активностью; экспрессия генов антиоксидантных ферментов (супероксиддисмутазы, каталазы) [20]. Кроме того, мелатонин в условиях окислительного стресса может ингибировать экспрессию индуцибельной изоформы NO-синтазы, образование пероксинитрита (мощного окислителя) и тем самым снижать окислительные повреждения [21]. Также известно, что мелатонин при окислительном стрессе, индуцированном введением липополисахарида, оказывает модифицирующее влияние на кислородтранспортную функцию крови и газотрансмиттеры, что имеет значение для формирования кислородного обеспечения организма и развития прооксидантно-антиоксидантного дисбаланса [22].

Заключение. Таким образом, согласно полученным нами данным, прием мелатонина обусловливает менее существенный прирост уровней МДА, ДК, а также меньшее снижение концентрации ретинола, α-токоферола и восстановленного глутатиона при ФН. Применение мелатонина у лиц мужского пола с низким уровнем физического состояния позволяет достигнуть снижения степени прооксидантно-антиоксидантного дисбаланса при мышечной работе, что отражает его вклад в адаптивный процесс при этом состоянии.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список использованных источников

1. Fritz, K. S. Exploring the biology of lipid peroxidation-derived protein carbonylation / K. S. Fritz, D. R. Petersen // Chem. Res. Toxicol. – 2011. – Vol. 24, N 9. – P. 1411–1419. https://doi.org/10.1021/tx200169n

2. Гунина, Л. М. Окислительный стресс и адаптация: метаболические аспекты влияния физических нагрузок / Л. М. Гунина // Наука в олимпийском спорте. – 2013. – № 4. – С. 19–25.

3. Окислительный стресс при занятиях физической культурой: методы диагностики и коррекции антиоксидантного статуса / Л. А. Калинкин [и др.] // Вестн. спорт. науки. – 2014. – № 1. – С. 31–35.

4. Перцов, С. С. Мелатонин в системных механизмах эмоционального стресса / С. С. Перцов. – М. : РАМН, 2011. – 231 с.

5. Арушанян, Э. Б. Участие эпифиза в антистрессорном действии адаптогенных средств / Э. Б. Арушанян, Э. В. Бейер // Эксперим. и клин. фармакол. – 2015. – Т. 78, № 1. – С. 9–12.

6. Пирогова, Е. А. Влияние физических упражнений на работоспособность и здоровье человека / Е. А. Пирогова, Л. Я. Иващенко, Н. П. Страпко. – Киев : Здоровье, 1986. – 152 с.

7. Карпман, В. Л. Тестирование в спортивной медицине / В. Л. Карпман, З. Б. Белоцерковский, И. А. Гудков. – М. : Физкультура и спорт, 1988. – 208 с.

8. Камышников, В. С. Справочник по клинико-биохимической лабораторной диагностике / В. С. Камышников. – Минск : Беларусь, 2002. – Т. 1. – 495 с.

9. Laboratory techniques in biochemistry and molecular biology. Techniques in free radical research / ed. : C. A. Rice-Evans, A. T. Diplock, M. C. R. Symons. – London : Elsevier, 1991. – Vol. 22. – 291 p.

10. Sedlak, J. Estimation of total, protein-bound, and protein sulfhydryl groups in tussue with Ellman's reagent / J. Sedlak, R. N. Lindsay // Anal. Biochem. – 1968. – Vol. 25, N 1. – P. 192–205. https://doi.org/10.1016/0003-2697(68)90092-4

11. Taylor, S. L. Sensitive fluorometric method for tissue tocopherol analysis / S. L. Taylor, M. P. Lamden, A. L. Tappel // Lipids. – 1976. – Vol. 11, N 7. – P. 530–538. https://doi.org/10.1007/bf02532898

12. Применение новых биохимических способов для оценки окислительно-антиоксидантного потенциала липопротеинов низкой плотности / Ю. И. Рагино [и др.] // Клин. лаб. диагностика. – 2005. – № 4. – С. 11–15.

13. Aruoma, O. I. Antioxidant methodology: in vivo and in vitro concepts / O. I. Aruoma, S. L. Cuppett. – New York : AOCSPress, 1997. – 256 p.

14. Lamprecht, M. Antioxidants in sport nutrition / M. Lamprecht. – Boca Raton (FL) : CRC Press, 2014. – 299 p.

15. Mechanisms that modulate peripheral oxygen delivery during exercise in heart failure / T. Kisaka [et al.] // Annals Am. Thorac. Soc. – 2017. – Vol. 14, Suppl. 1. – P. S40–S47. https://doi.org/10.1513/annalsats.201611-889fr

16. Механизмы антиоксидантной адаптации скелетных мышц / С. А. Алиев [и др.] // Науч. альманах. – 2016. – № 12-2 (26). – С. 332–339.

17. Гунина, Л. М. Механизмы влияния антиоксидантов при физических нагрузках / Л. М. Гунина // Наука в олимп. спорте. – 2016. – № 1. – С. 25–32.

18. Biochemical reactivity of melatonin with reactive oxygen and nitrogen species: a review of the evidence / R. J. Reiter [et al.] // Cell. Biochem. Biophys. – 2001. – Vol. 34, N 2. – P. 237–256. https://doi.org/10.1385/cbb:34:2:237

19. Арушанян, Э. Б. Мелатонин (биология, фармакология, клиника) / Э. Б. Арушанян, Э. В. Бейер. – Ставрополь : Ставроп. гос. мед. ун-т, 2015. – 395 с.

20. Protective effects of melatonin on retinal inflammation and oxidative stress in experimental diabetic retinopathy / T. Jiang [et al.] // Oxid. Med. Cell. Longevity. – 2016. – Vol. 2016. – P. 1–13. https://doi.org/10.1155/2016/3528274

21. Modulation of local and systemic heterocellular communication by mechanical forces: a role of endothelial nitric oxide synthase / R. Erkens [et al.] // Antioxid Redox Signal. – 2017. – Vol. 26, N 16. – P. 917–935. https://doi.org/10.1089/ars.2016.6904

22. Зинчук, В. В. Участие мелатонина в регуляции кислородтранспортной функции крови при окислительном стрессе, вызванном введением липополисахарида / В. В. Зинчук, М. Э. Фираго // Биомед. химия. – 2017. – Т. 63, № 6. – С. 520–526.

References

1. Fritz K. S., Petersen D. R. Exploring the biology of lipid peroxidation-derived protein carbonylation. *Chemical Research in Toxicology*, 2011, vol. 24, no. 9, pp. 1411–1419. https://doi.org/10.1021/tx200169n

2. Gunina L. M. Oxidative stressand adaptation: metabolic aspects of physical activity impact. *Nauka v olimpiiskom sporte* [Science in olympic sport], 2013, no. 4, pp. 19–25 (in Russian).

3. Kalinkin L. A., Statsenko E. A., Ponomareva A. G., Morozov V. N., Kutnyakhova L. V., Krivoshchapov M. V., Rummo D. V., Kostyuk Z. M. Oxidative stress while physical activity: methods of evaluation and correction of antioxidant status. *Vestnik sportivnoi nauki* [Sports science bulletin], 2014, no. 1, pp. 31–35 (in Russian).

4. Pertsov S. S. *Melatonin in systemic mechanisms of an emotional stress*. Moscow, Russian Academy of Medical Science, 2011. 231 p. (in Russian).

5. Arushanyan E. B., Beier E. V. Participation of pineal gland in antistressor activity of adaptogenic drugs. *Eksperimental'naya i klinicheskaya farmakologiya = Russian journal of experimental and clinical pharmacology,* 2015, vol. 78, no. 1, pp. 9–12 (in Russian).

6. Pirogova E. A., Ivashchenko L. Ya., Strapko N. P. *The impact of exercise on performance and health*. Kiev, Zdorov'e Publ., 1986. 152 p. (in Russian).

7. Karpman V. L., Belotserkovskii Z. B., Gudkov I. A. *Testing in sports medicine*. Moscow, Fizkul'tura i sport Publ., 1988. 208 p. (in Russian).

8. Kamyshnikov V. S. *Handbook of clinical and biochemical laboratory diagnostics. Vol. 1*. Minsk, Belarus Publ., 2002. 495 p. (in Russian).

9. Rice-Evans C. A., DiplockA. T., Symons M. C. R. (ed.). *Laboratory techniques in biochemistry and molecular biology. Techniques in free radical research. Vol. 22*. London, Elsevier, 1991. 291 p.

10. Sedlak J., Lindsay R. N. Estimation of total, protein-bound, and protein sulfhydryl groups in tussue with Ellman's reagent. *Analytical Biochemistr*y, 1968, vol. 25, no. 1, pp. 192–205. https://doi.org/10.1016/0003-2697(68)90092-4

11. Taylor S. L., Lamden M. P., Tappel A. L. Sensitive fluorometric method for tissue tocopherol analysis. *Lipids*, 1976, vol. 11, no. 7, pp. 530–538. https://doi.org/10.1007/bf02532898

12. Ragino Yu. I., Voevoda M. I., Kashtanova E. V., Ivanova M. V., Nikitin Yu. P.New biochemical methods for evaluation of the oxidative-antioxidative potential of low-density lipoproteins. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika= Russian clinical laboratory diagnostics*, 2005, no. 4, pp. 11–15 (in Russian).

13. Aruoma O. I., Cuppett S. L. *Antioxidant Methodology: in vivo and in vitro Concepts.* New York, AOCSPress, 1997. 256 p.

14. Lamprecht M. *Antioxidants in sport nutrition*. Boca Raton (FL), CRC Press, 2014. 299 p.

15. Kisaka T., Stringer W. W., Koike A., Agostoni P., Wasserman K. Mechanisms that modulate peripheral oxygen delivery during exercise in heart failure. *Annals of the American Thoracic Society*, 2017, vol. 14, suppl. 1, pp. S40–S47. https://doi.org/10.1513/annalsats.201611-889fr

16. Aliev S. A., Gasanova A. K., Alibekova S. S., Bekhbudova G. M. Mechanisms of antioxidant adaptation in skeletal muscles. *Nauchnyi al'manakh = Science almanac*, 2016, no. 12-2 (26), pp. 332–339 (in Russian).

17. Gunina L. M. The mechanisms of effects of antioxidants on the physical performance of athletes. *Nauka v olimpiiskom sporte =Science in olympic sport*, 2016, no. 1, pp. 25–32 (in Russian).

18. Reiter R. J., Tan D. X., Manchester L. C., Qi W. Biochemical reactivity of melatonin with reactive oxygen and nitrogen species: a review of the evidence. *Cell Biochemistry and Biophysics*, 2001, vol. 34, no. 2, pp. 237–256. https://doi.org/10.1385/cbb:34:2:237

19. Arushanyan E. B., Beier E. V. *Melatonin (biology, pharmacology, clinic).* Stavropol, Publishing House of Stavropol State Medical University, 2015. 395 p. (in Russian).

20. Jiang T., Chang Q., Cai J., Fan J., Zhang X., Xu G. Protective effects of melatonin on retinal inflammation and oxidative stress in experimental diabetic retinopathy. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2016, vol. 2016, pp. 1–13. https://doi.org/10.1155/2016/3528274

21. Erkens R., Suvorava T., Kramer C. M., Diederich L. D., Kelm M., Cortese-Krott M. M. Modulation of local and systemic heterocellular communication by mechanical forces: a role of endothelial nitric oxide synthase. *Antioxid and Redox Signal*, 2017, vol. 26, no. 16, pp. 917–935. https://doi.org/10.1089/ars.2016.6904

22. Zinchuk V. V., Firago M. E. Participation of melatonin in regulation of blood oxygen-transport function in oxidative stress induced by injection of lipopolisaccharide. *Biomeditsinskaya khimiya* [Biomedical chemistry], 2017, vol. 63, no. 6, pp. 520–526 (in Russian).

Информация об авторах

Полуян Игорь Александрович – подполковник медицинской службы, преподаватель. Гродненский государственный медицинский университет (ул. Горького, 80, 230015, г. Гродно, Республика Беларусь).E-mail: zinchuk@grsmu.by

Зинчук Виктор Владимирович – д-р мед. наук, профессор, заведующий кафедрой. Гродненский государственный медицинский университет (ул. Горького, 80, 230015, г. Гродно, Республика Беларусь). E-mail: zinchuk@grsmu.by

Глуткин Сергей Викторович – канд. мед. наук, доцент. Гродненский государственный медицинский университет (ул. Горького, 80, 230015, г. Гродно, Республика Беларусь). E-mail: glutkin@mail.ru

Гуляй Ирина Эдвардовна – канд. биол. наук, доцент, вед. науч. сотрудник. Гродненский государственный медицинский университет (ул. Горького, 80, 230015, г. Гродно, Республика Беларусь). E-mail: irinagulyai@gmail.com

Information about the authors

Igor A. Poluyan – Colonel of medical service, teacher. Grodno State Medical University (80, Gorky Str., 230015, Grodno, Republic of Belarus). E-mail: zinchuk@grsmu.by

Victor V. Zinchuk – D. Sc. (Med.), Professor, Head of the Department. Grodno State Medical University (80, Gorky Str., 230015, Grodno, Republic of Belarus). E-mail: zinchuk@grsmu.by

Siarhei V. Hlutkin – Ph. D. (Med.), Assistant Professor. Grodno State Medical University (80, Gorky Str., 230015, Grodno, Republic of Belarus). E-mail: glutkin@mail.ru

Iryna E. Huliai – Ph. D. (Biol.), Assistant Professor, Leading researcher. Grodno State Medical University (80, Gorky Str., 230015, Grodno, Republic of Belarus). E-mail: irinagulyai@gmail.com

ISSN 1814-6023 (Print)
ISSN 2524-2350 (Online)

АГЛЯДЫ
SURVEYS

УДК 616.831.95-089
https://doi.org/10.29235/1814-6023-2019-16-3-373-384

Поступила в редакцию 29.10.2018
Received 29.10.2018

Ю. Г. Шанько, А. Ф. Смеянович, В. В. Булгак, Е. В. Сыч, А. Л. Танин, Е. Ю. Черныш

Республиканский научно-практический центр неврологии и нейрохирургии, Минск, Республика Беларусь

СОВРЕМЕННЫЕ ПОДХОДЫ К ДИАГНОСТИКЕ И ЛЕЧЕНИЮ МЕНИНГИОМ КРАНИОВЕРТЕБРАЛЬНОЙ ОБЛАСТИ

Аннотация. Проведен анализ 34 случаев менингиом краниовертебральной области, что составило около 1,6 % от их общего числа у пациентов с первичными симптоматическими внутричерепными менингиомами. Боковая или переднебоковая локализация опухолей выявлена в 31 (91,2 %) случае, задняя – в 2 (5,9 %), передняя без латерализации – в 1 (2,9 %). Из субокципитального доступа оперированы 27 (79,4 %) пациентов, из заднебокового субокципитального (чрезмыщелкового) – 7 (20,6 %). Тотально опухоли удалены в 24 (70,6 %) случаях, субтотально – в 6 (17,6 %), частично – в 4 (11,8 %). Послеоперационной летальности не было. Рецидивирования опухолей в течение всего периода наблюдений не отмечено.

Субокципитальный латерализованный доступ с ляминэктомией до уровня нижнего полюса опухоли обеспечивал адекватное микрохирургическое удаление менингиом краниовертебральной области без резекции атланто-окципитального сочленения. Подход к матриксу новообразования осуществлялся после частичной резекции опухоли без тракции стволовых отделов мозга. Контроль стволовых функций на всех этапах удаления опухоли и выделения позвоночной артерии обеспечивал интраоперационный нейромониторинг.

Ключевые слова: краниовертебральная область, большое затылочное отверстие, менингиомы, микрохирургия, хирургические результаты

Для цитирования: Современные подходы к диагностике и лечению менингиом краниовертебральной области / Ю. Г. Шанько [и др.] // Вес. Нац. акад. навук Беларусі. Сер. мед. навук. – 2019. – Т. 16, № 3. – С. 373–384. https://doi.org/10.29235/1814-6023-2019-16-3-373-384

Y. G. Shanko, A. F. Smeyanovich, V. V. Bulgak, E. V. Sych, A. L. Tanin, E. Y. Chernysh

Republican Research and Clinical Center of Neurology and Neurosurgery, Minsk, Republic of Belarus

MODERN APPROACHES TO THE DIAGNOSIS AND TREATMENT OF MENINGIOMAS OF THE CRANIOCERVICAL JUNCTION REGION

Abstract. 34 cases of craniocervical junction region meningiomas are analyzed. It was about 1.6 % of the general number of patients with primary symptomatic intracranial meningiomas. Lateral or anterolateral meningiomas were in 31 cases (91.2 %), posterior – in 2 cases (5.9 %), anterior without lateralization – in 1 case (2.9 %). 27 patients (79.4 %) are operated on through the suboccipital approach, 7 patients (20.6 %) – through the far-lateral suboccipital (transcondyllar) approach. Total removal of tumors was made in 24 cases (70.6 %), subtotal removal – in 6 cases (17.6 %), partial removal – in 4 cases (11.8 %). Mortality was not observed. Intraoperative monitoring significantly improved the preservation of neurological functions. There were no cases of tumors recidivating during a long-term observation.

The suboccipital lateralized approach with laminectomy till the level of the lower pole of the tumor was sufficient to provide an adequate microsurgical removal of meningiomas of the craniocervical junction without resection of an atlantooccipital joint. The approach to the neoplasm matrix should be carried out after partial tumor resection without traction of brain stem parts. The use of intraoperative neuromonitoring supervised the stem functions at all stages of tumor removal and during the vertebral artery allocation.

Keywords: craniocervical junction region, foramen occipitalis magnum, meningiomas, microsurgery, surgical outcomes

For citation: Shanko Y. G., Smeyanovich A. F., Bulgak V. V., Sych E. V., Tanin A. L., Chernysh E. Y. Modern approaches to the diagnosis and treatment of meningiomas of the craniocervical junction region. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seriya meditsinskikh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2019, vol. 16, no. 3, pp. 373–384 (in Russian). https://doi.org/10.29235/1814-6023-2019-16-3-373-384

Введение. В последнее десятилетие структура внутричерепных опухолей существенно изменилась. Так, если, по данным CBTRUS, в 1994 г. глиомы составляли 46,5 % (в том числе глиобластомы – 23,3 %) от всех новообразований головного мозга, менингиомы – 24,8, прочие новообразования – 28,7 %, то в 2007–2011 гг. доля глиом уменьшилась до 27,8 % (в том числе глиобластом – до 15,6 %), а доля менингиом и прочих новообразований возросла до 35,8 и 36,4 % соответственно [1, 2].

Внутричерепные менингиомы относят, как правило, к категории доброкачественных новообразований (Grade I–II) [3] с медленным ростом и прогредиентным течением. Отдельную группу составляют менингиомы основания черепа, характеризующиеся сложными анатомическими взаимоотношениями и высокой чувствительностью окружающих структур к хирургическим манипуляциям. Удаление таких новообразований сопряжено с решением задачи функционального сохранения внутричерепных невральных и сосудистых структур, что обеспечивается широкими возможностями микронейрохирургии, в частности использованием хирургической оптики, нейрофизиологического мониторинга и др. [4].

Среди всех внутричерепных менингиом особую группу представляют менингиомы краниовертебрального перехода, или области большого затылочного отверстия (БЗО), что обусловлено их специфической симптоматикой, сложной хирургической анатомией и уникальными оперативными условиями. Эти новообразования составляют, по разным оценкам, от 0,3 до 1,8–3,2 % от всех внутричерепных менингиом (1 случай на 2–7 млн населения в год) [4, 5]. Считается, что среди всех менингиом новообразования области БЗО наиболее опасны, поскольку показатели послеоперационной летальности и хирургических осложнений при таких патологиях очень высоки. Редкость клинических наблюдений, сложная анатомическая локализация и высокий риск хирургических манипуляций предполагают в каждом конкретном случае разработку индивидуальной тактики оперативного лечения.

Анатомически область БЗО определяется в следующих границах: спереди – от нижней трети ската черепа до верхнего края тела C_2 позвонка; латерально – от яремного бугорка затылочной кости до верхнего края дужки C_2 позвонка; сзади – от переднего края чешуи затылочной кости до остистого отростка C_2 позвонка [6–10].

Цель исследования – оптимизация методов микрохирургического удаления менингиом большого затылочного отверстия.

Материалы и методы исследования. Изучено 34 случая менингиом у пациентов (7 мужчин, 27 женщин, соотношение М:Ж – 1:3,9) в возрасте от 18 до 75 лет (средний возраст – 52,8 года) за период с 1991 по 2016 г., что составило около 1,6 % от общего числа лиц с симптоматическими менингиомами.

Считается, что только 25 % менингиом являются симптоматическими, а остальные выявляются как находки при обследованиях или аутопсиях. В нашем исследовании все опухоли были симптоматическими, не было ни одного случайного обнаружения менингиомы БЗО при МРТ или КТ. Продолжительность манифестации до диагностики составила от 2,5 до 48 мес. (средняя продолжительность – 14,8 мес.). Клиническая симптоматика представлена в таблице.

Первое проявление заболевания – боль в шейно-затылочной области, усиливающаяся при сгибании головы. Все 34 (100 %) пациента отмечали прогрессирующую боль в указанных отделах и нарастание ее до парестезий в руке. Эти проявления, как правило, были основными и наиболее четко выраженными в клинике менингиом БЗО. Кроме того, у всех 34 (100 %) пациентов наблюдалась пирамидная недостаточность разной степени выраженности. При этом в 1 (2,9 %) случае из-за тетрапареза пациентка не могла самостоятельно передвигаться в течение около 3 мес., а у 4 (11,8 %) человек отмечались существенные ограничения двигательных функций. У большинства обследованных пирамидные нарушения были выражены умеренно. Головокружение у 22 (64,7 %) пациентов носило несистемный характер. Несколько реже (у 18 (52,9 %)

Неврологическая симптоматика менингиом БЗО

Neurological symptoms of foramen magnum meningiomas

Клинический симптом	Частота наблюдений
Головная боль в шейно-затылочной области	34 (100 %)
Головокружение	22 (64,7 %)
Пирамидная недостаточность	34 (100 %)
Расстройства координации движений	18 (52,9 %)
Нейропатии черепных нервов: IX, X, XI XII	 19 (55,9 %) 6 (17,6 %)
Нейропатии корешков C_1–C_2	22 (64,7 %)
Атрофия грудино-ключично-сосцевидной и трапециевидной мышц	11 (32,4 %)
Отек диска зрительного нерва	18 (52,9 %)
Окклюзионные кризы	7 (20,6 %)

человек) выявлялись расстройства координации движений. Очень частыми проявлениями были нейропатии черепных нервов: IX, X, XI – у 19 (55,9 %) человек, XII – у 6 (17,6 %). За счет поражения добавочного нерва атрофии трапециевидной и грудино-ключично-сосцевидной мышц развились у 11 (32,4 %) пациентов. У 22 (64,7 %) человек отмечались температурные дизестезии, астереогнозия и анестезия в дерматомах C_1–C_2. При этом пациенты, как правило, придавали значение только болям в шейно-затылочной области, моторным расстройствам и атаксии. Окклюзионные кризы по анамнезу отмечены у 7 (20,6 %) пациентов. При осмотре глазного дна отек диска зрительного нерва выявлен у 18 (52,9 %) обследованных.

Всем пациентам исследуемой и контрольной групп проведено комплексное обследование по принятым в нейроонкологии стандартам. Основой диагностики менингиом БЗО было комплексное использование методов КТ и МРТ. Определение локализации менингиомы в БЗО, уточнение ее взаимоотношения со стволом мозга (латерализации) и позвоночными артериями, установление экстрадурального распространения – основные задачи нейровизуализации. Менингиомы малого и среднего размера (до 1/2 диаметра БЗО, менее 2,5 см в наибольшем измерении) выявлены у 8 (23,5 %) пациентов, менингиомы большого размера (более 1/2 диаметра БЗО, свыше 2,5 см в наибольшем измерении) – у 26 (76,5 %). Боковое и переднебоковое расположение опухоли было у 31 (91,2 %) человека, заднее – у 2 (5,9 %), переднее без латерализации – у 1 (2,9 %) (рис. 1).

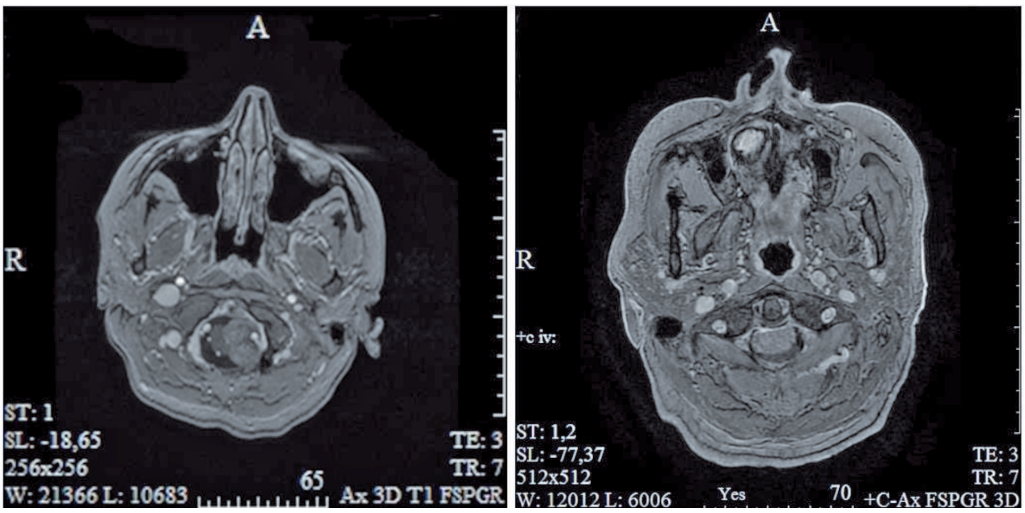


Рис. 1. Менингиомы БЗО вентрального расположения с латерализацией (слева) и без латерализации (справа)

Fig. 1. Foramen magnum meningiomas of the ventral location with lateralization (left) and without lateralization (right)

Менингиомы БЗО при КТ определялись как объемные образования округлой или овальной формы изо- или слегка гиперинтенсивной плотности. Гиподенсивных менингиом нами не выявлено. Накопление контраста во всех случаях носило преимущественно гомогенный характер. Внутриопухолевых кист при менингиомах БЗО не обнаружено ни в одном наблюдении. Кальцификация небольших размеров присутствовала только в 2 (5,9 %) случаях. Четвертый желудочек был сдавлен и смещен либо расширен при каудальном расположении опухоли. Гидроцефалия боковых и третьего желудочков отмечена в 25 (73,5 %) наблюдениях. Для менингиом БЗО широкое основание опухоли, прилежащее к твердой мозговой оболочке, было обязательным признаком. В 4 (11,8 %) случаях наблюдался инвазивный рост в костную ткань. Костные изменения (гиперостозы) при менингиомах БЗО в нашем исследовании были незначительными.

Эти новообразования не характеризовались перифокальными изменениями, что не очень типично для менингиом. Частота таких изменений при других локализациях менингиом составляла 50–83 % [4].

Возможности метода двухэнергетической спиральной компьютерной томографии (СКТ) позволяли не только обеспечить 3D-реконструкцию костных структур с проецированием на них опухолевого узла менингиомы, но и проведение СКТ-ангиографии с проецированием магистральных сосудов на опухолевый узел (рис. 2).

Гетерогенность внутренней структуры менингиом и большое разнообразие их МРТ-вариантов определяется гистобиологическими свойствами опухоли. При менингиомах БЗО никаких специфических МРТ-закономерностей нам проследить не удалось. При парамагнитном внутривенном контрастном усилении практически все менингиомы характеризовались выраженным гомогенным накоплением контрастного препарата. Предполагается, что это обусловлено отсутствием в капиллярах менингиом гемато-тканевого барьера, типичного для мозговых капилляров [4]. Перифокальные изменения вокруг менингиом БЗО локального характера выявлены только у 5 (14,7 %) пациентов, распространенного характера – не выявлены ни в одном случае.

Одним из наиболее существенных МРТ-признаков менингиом является ликворная щель между поверхностью опухолевого узла и мозговыми структурами с расположенными в них сосудами [4]. При менингиомах БЗО, в отличие от другой локализации новообразований, этот признак менингиом выявлялся не во всех случаях. Полная или частичная обтурация была обусловлена адгезивными сращениями арахноидальной оболочки с подлежащими поверхностными отделами мозга вследствие пролиферативных изменений, развивающихся на границе опухоли.

Полная сохранность перитуморозной ликворной щели отмечена у 4 (11,8 %) человек, ее частичная обтурация – у 22 (64,7 %), полная обтурация – у 8 (23,5 %) (при супратенториальных менингиомах последняя наблюдается редко). Прорастание опухолью твердой мозговой оболочки выявлялось и без контрастного усиления – по утолщению последней и деформации наружного контура [2]. Но контрастное усиление повышало возможности диагностики инвазии новообразования через твердую мозговую оболочку. В нашем исследовании этот признак отмечен у 7 (20,6 %) пациентов. Согласно данным МРТ, обрастание позвоночной артерии опухолью установлено в 12 (35,3 %) случаях (рис. 3). Но это не вполне корректные данные, поскольку интраоперационно инвазия менингиомы в твердую мозговую оболочку вокруг позвоночной артерии отмечена в 18 (52,9 %) наблюдениях.

Для удаления менингиом БЗО нами использовались срединный субокципитальный (у 27 (79,4 %) чел.) и заднебоковой субокципитальный чрезмыщелковый (у 7 (20,6 %) чел.) хирургические доступы с латерализацией. Срединный субокципитальный доступ считается оптимальным для удаления менингиом БЗО задней локализации – в этих случаях мозговые структуры смещаются кпереди от опухоли. Заднебоковой (дальний боковой, или латеральный) субокципитальный доступ (far-lateral approach, postero-lateral approach or lateral suboccipital approach) впервые был предложен W. T. H. Koos с соавт. (1985) и модифицирован R. C. Heros (1986; 1991) и A. Perneczky (1986) [11, 12]. Он обеспечивает нижнелатеральный подход, при необходимости – двусторонний, к вентральной поверхности ствола мозга без мозговой ретракции. Описанные

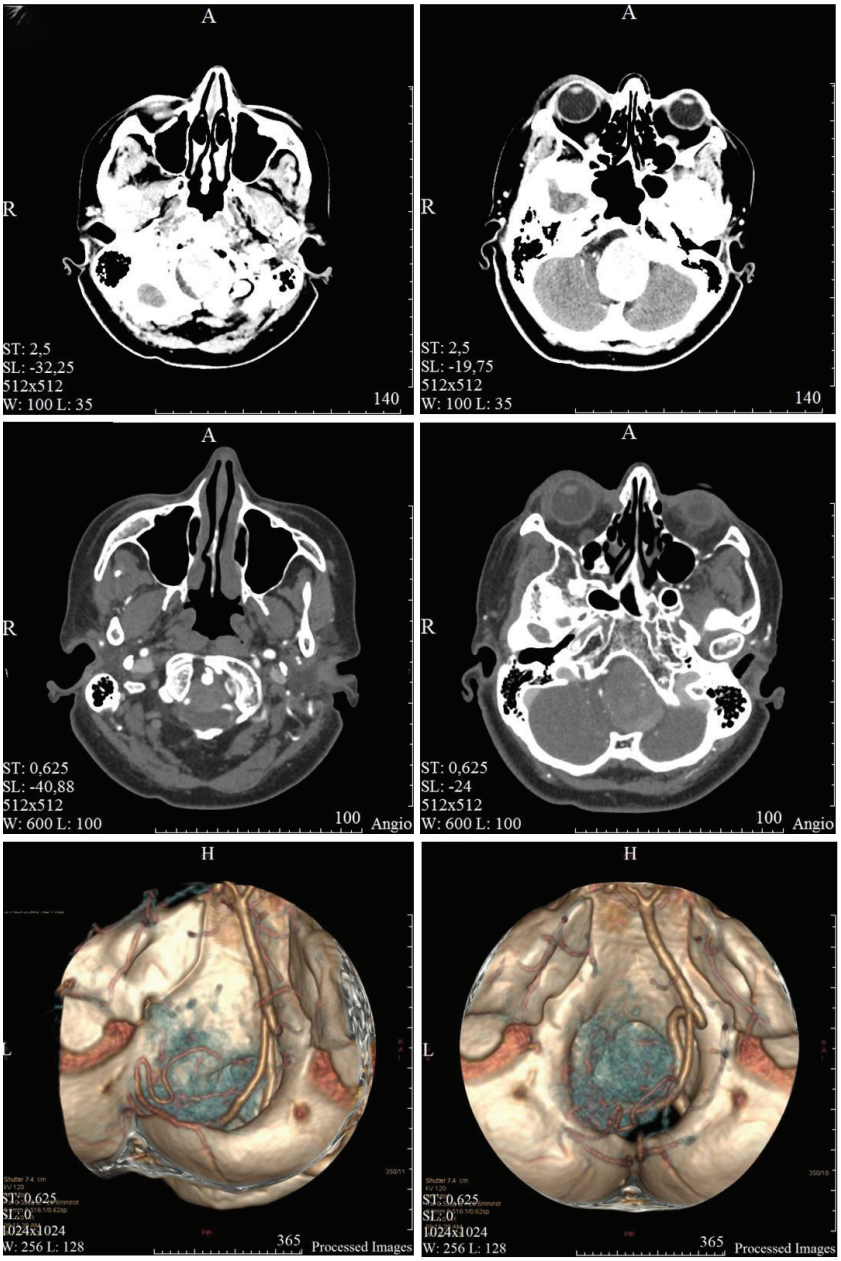


Рис. 2. Двухэнергетическая СКТ пациентки К., 55 лет. Менингиома БЗО переднебокового расположения слева с преимущественно оральным направлением роста. СКТ с внутривенным усилением, СКТ-ангиография и 3D-реконструкция (в синий цвет окрашена опухоль, вертебральные и базилярная артерии смещены опухолью вправо)

Fig. 2. Dual-source computed tomography (CT) of patient K, 55 year-old. Foramen magnum meningioma of anterior lateral location (left) with a predominantly oral growth. CT with internal intensification, CT angiography and 3D-reconstruction (the blue color is the tumor, the vertebral and basilar arteries are dislocated by the tumor to the right)

варианты различаются лишь степенью резекции мыщелков и уровнем мобилизации позвоночной артерии. После мобилизации сегмента позвоночной артерии он смещался книзу, поэтому для резекции задней части мыщелков атланто-окципитального сочленения использовали дрель. Во избежание краниоцервикальной нестабильности резекцию сустава осуществляли более чем на 1/2. Считается, что частичная кондиллэктомия способна существенно расширить хирургический коридор.

Твердую мозговую оболочку рассекали Y-образно или подковообразно, края ее фиксировали лигатурами. При доступности матрикса удаление опухоли начинали с деваскуляризации задненижней его порции. Затем менингиому энуклеировали по частям и отделяли от корешков

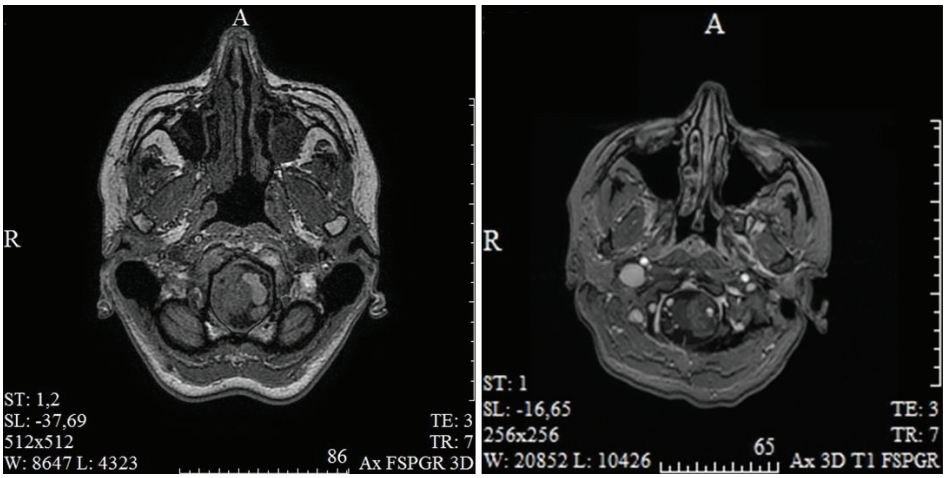


Рис. 3. Обрастание позвоночной артерии опухолью (по данным МРТ)

Fig. 3. Tumor overgrowing of the vertebral artery (according to MRI data)

спинного мозга и каудальных нервов. Медиальную и переднюю части опухоли удаляли в последнюю очередь – после полной деваскуляризации, в чистом операционном поле, с минимальным смещением ствола мозга. При недоступности матрикса удаление начинали с энуклеации опухоли с использованием УЗ диссектора-аспиратора в видимых пределах, в условиях тщательного этапного гемостаза. Зону энуклеации расширяли в глубину в сторону матрикса, который коагулировали, начиная с его срединных отделов. Постепенно деваскуляризировали и удаляли заднюю порцию менингиомы, выделяли каудальные и подъязычный нервы, шейные корешки спинного мозга. После этого хирургический коридор значительно расширялся, что обеспечивало контролируемые манипуляции на оставшейся медиальной части опухоли и ее матрикса. После выключения последнего и отсечения его от твердой мозговой оболочки медиальную часть опухоли удаляли по частям. В 3 (11,3 %) случаях контроль манипуляций обеспечивало использование ассистирующей эндоскопии.

При обрастании твердой мозговой оболочки опухолью в 7 (20,6 %) случаях произведена частичная или полная резекция ее пораженных участков (кпереди или кзади от позвоночной артерии).

Выделение из опухоли позвоночных артерий сопряжено с риском развития ишемии, поэтому требовался тщательный интраоперационный нейрофизиологический мониторинг. Нам удалось выделить позвоночные артерии и отделить их от опухоли на всем протяжении от места ее пенетрации через твердую мозговую оболочку у 14 (41,2 %) пациентов. В 4 (11,8 %) случаях выделение позвоночных артерий и объем резекции опухоли были ограничены из-за показаний нейромониторинга (резкое снижение амплитуды сигнала соматосенсорных вызванных потенциалов) или анестезиологических ограничений (стойкие брадикардия и снижение артериального давления (АД).

Пластику твердой мозговой оболочки производили с использованием мышц, после чего рану послойно ушивали.

Результаты и их обсуждение. Для оценки степени радикальности хирургического вмешательства нами использовалась градационная система D. Simpson. Тотальное удаление менингиом БЗО (Simpson 2) было произведено у 24 (70,6 %) пациентов, субтотальное (Simpson 3) – у 6 (17,6 %), частичное (Simpson 4) – у 4 (11,8 %). Послеоперационной летальности не было. В одном наблюдении удаление опухоли было произведено в два этапа из-за того, что во время первого вмешательства, вероятно, из-за дислокации ствола мозга у пациента отмечались снижение АД до 60 мм рт. ст. и брадикардия. Спустя 5 мес. (второй этап) менингиома была удалена тотально.

В раннем послеоперационном периоде отмечены дисфункции каудальных нервов и корешков C_1–C_2 у 19 (55,9 %) пациентов, у 13 (38,2 %) имели место слабо или умеренно выраженные

пирамидные расстройства. Мозжечковая атаксия отмечена в 22 (64,7 %) наблюдениях. В 3 (8,8 %) случаях наблюдалась клинически значимая пневмоцефалия, которая потребовала эвакуации воздуха из полости черепа (пациенты оперированы в положении сидя на операционном столе). Геморрагических осложнений не было ни в одном случае.

Послеоперационная радиохирургия (гамма-нож) была проведена у 1 (2,9 %) пациента после субтотального удаления опухоли, лучевая терапия – у 4 (11,8 %) человек после частичного и субтотального удаления менингиомы.

Функциональные исходы первоначально оценены по шкале качества жизни Карновского (Karnoffsky performance scale) в сроки от 6 до 14 мес. после операции. Уровень 90–100 % (без ограничений трудоспособности и жизнедеятельности) имели 23 (67,7 %) пациента, уровень 70–80 % (легкие ограничения трудоспособности и жизнедеятельности) – 8 (23,5 %), уровень 50–60 % (умеренные ограничения трудоспособности и жизнедеятельности) – 3 (8,8 %) человека, у которых опухоль была удалена частично. Грубых неврологических нарушений, существенно ограничивающих трудоспособность и жизнедеятельность, не было ни в одном наблюдении.

Все пациенты находились или продолжают находиться под наблюдением согласно клиническим протоколам, и им рекомендовано проведение контрольной МРТ не реже 1 раза в год. Катамнез составил до 19 лет. Повторных обращений по поводу рецидива или продолженного роста менингиом БЗО не было ни в одном случае, даже после субтотального или частичного удаления опухоли.

M. Yasargil с соавт. (1980) [8], проанализировав все 114 случаев хирургического лечения менингиом БЗО, описанных в литературе с 1924 по 1976 г., установили средний уровень хирургической летальности – 13 %. К настоящему времени самые крупные группы пациентов были представлены B. George, G. Lot (1995) [13], которые провели кооперативное исследование 143 краниоцервикальных менингиом из 21 клиники, Z. Wu с соавт. (2009) [14], проанализировавших 114 наблюдений из одной клиники за 15 лет (Beijing Tiantan Hospital, China), и С. И. Таняшиным, С. В. Кондраховым, В. Н. Шиманским (2016), которые изучили данные 104 пациентов, оперированных за период с 2003 по 2015 г. в Институте нейрохирургии им. академика Н. Н. Бурденко (Москва) [15]. M. Bruneau, B. George (2008) [16] представили детальный обзор 343 случаев менингиом БЗО, описанных в англоязычной литературе с 1987 по 2006 г., включая 40 собственных наблюдений. M. N. Pamir, K. Özduman (2015) [17] в своем обзоре представили сведения о 467 оперированных менингиомах БЗО, в том числе о 22 собственных наблюдениях, за период с 1978 по 2006 г. (микрохирургический период) и дали информацию о 3 новых собственных случаях. В публикации M. Bruneau, B. George (2010) [18] приведено описание 57 новых случаев в дополнение к 40 представленным ранее. Помимо этого, в последние годы был опубликован ряд работ, в которых представлено еще 212 новых случаев хирургического лечения менингиом БЗО [19–21]. Таким образом, в доступной литературе к 2016 г. было описано свыше 850 случаев хирургического лечения менингиом БЗО.

В публикациях 1980–1990-х годов в единичных группах послеоперационная летальность составляла 0 % [22], в то же время у B. George с соавт. (1997) [23] она составила 7,5 %, у C. N. Sen, L. N. Sekhar (1990) [24] – 20, у G. P. Kratimenos, H. A. Crockard (1993) [25] – 29, у H. A. Crockard, C. N. Sen (1991) [23] – 66 %. Исследования последних лет демонстрируют снижение послеоперационной летальности до уровня 0–3,6 % [17, 26]. В обзоре M. Bruneau, B. George (2008) [16] указано, что до 2008 г. послеоперационная летальность составляла от 0 до 25 % (среднее значение – 6,2 %), причем более 10 % она была в основном в малых группах [19, 25, 27, 28]. В работах 2004–2015 гг. послеоперационная летальность в группах от 11 до 30 пациентов составила от 0 % [29–31] до 4,5–6,7 % [32]. По данным самого крупного анализа Z. Wu с соавт. (2009) [29] (114 наблюдений), послеоперационная летальность составила 1,8 %, что соответствует результатам С. В. Таняшина и др. (2016) [15] (104 случая) – 1,9 %.

Наш опыт диагностики симптоматических менингиом БЗО позволяет сделать заключение о том, что эти новообразования имеют очень специфическую клиническую картину, а их наиболее характерными проявлениями являются типичные боли в шейно-затылочной области, пирамидные нарушения и дисфункции каудальных черепных нервов и корешков C_1–C_2. Вариа-

бельность клинической симптоматики, на которую указывали неврологи прошлых лет [33, 34], не свойственна этим новообразованиям.

Локализация менингиомы БЗО, пожалуй, важнейшая характеристика новообразования, обеспечивающая планирование предстоящего хирургического вмешательства. Традиционно менингиомы БЗО расцениваются как передние, если их матрикс располагается вентрально по обе стороны от средней линии; как латеральные, если матрикс располагается между средней линией и зубчатой связкой; как задние, если матрикс располагается кзади от зубчатой связки. Большинство менингиом (68–98 %) имеет переднебоковое расположение, реже они локализуются в заднебоковых отделах, еще реже – в задних. В большинстве исследований переднебоковые и передние менингиомы группируются вместе и рассматриваются как передние, или вентральные [26, 35]. По нашему мнению, для более полной характеристики вентральных менингиом необходимо отмечать также и их латерализацию. Имеется в виду тот факт, что абсолютное большинство вентральных менингиом БЗО в большей или меньшей степени латерализованы, что определяет сторону хирургического доступа (см. рис. 2). В нашем исследовании опухоли вентрального расположения были латерализованы в 31 (91,2 %) наблюдении и только в 1 (2,9 %) случае вентральная менингиома БЗО не имела латерализации. Поскольку хирургические вмешательства при таких новообразованиях отличаются своими специфическими особенностями, целесообразнее, по нашему мнению, концентрироваться на понятии «хирургического коридора», а не на вентральном расположении опухоли [7, 35].

Менингиомы БЗО – это ограниченные опухоли, распространяющиеся в пределах указанной анатомической области без значительной костной инвазии, поэтому их удаление обычно не требует модифицированных хирургических доступов. Преимущественно вентральное расположение новообразования предполагает использование передних трансоральных подходов. Однако они оказались неэффективными из-за существенных недостатков: повышенного риска формирования ликворных фистул и инфицирования, плохой видимости латеральных отделов опухоли и, вследствие этого, неполного ее удаления, риска развития послеоперационной краниоцервикальной нестабильности и паралича мягкого нёба [9].

В соответствии с потребностями латерального расширения хирургического коридора в настоящее время для удаления менингиом БЗО используются следующие хирургические доступы: срединный субокципитальный, заднебоковой субокципитальный чрезмыщелковый и крайне-латеральный чрезмыщелковый.

Самым оптимальным для удаления менингиом БЗО задней локализации (кзади от зубчатой связки и медиальнее позвоночной артерии) считается задний субокципитальный доступ [7, 15]. Положение пациента на операционном столе – «сидя» (предпочтительнее для уменьшения венозного кровотечения) или «на боку» с жесткой фиксацией головы. Проблемы риска венозной воздушной эмболии легко решаются проведением анестезиологических мероприятий. Выполняется трепанация черепа (обычно резекционная) в нижней части затылочной кости с частичной резекцией задней дуги C_1. Твердую мозговую оболочку рассекают Т- или Y-образно, разводят и фиксируют швами. A. Goel с соавт. (2001) [36] считают, что даже вентральные менингиомы БЗО могут быть удалены из этого доступа.

При заднебоковом субокципитальном доступе существует риск повреждения позвоночной артерии на этапе кондиллэктомии или формирования ее стриктуры вследствие избыточной коагуляции. Расширение доступа кверху к яремному бугорку опасно риском повреждения каудальных черепных нервов.

Считается, что передне-боковой (крайне-латеральный) доступ (antero-lateral approach or extreme-lateral approach) показан при экстрадуральном распространении вентральных и вентролатеральных менингиом БЗО. Впервые он был описан C. N. Sen, L. N. Sekhar (1990), модифицирован E. Salas с соавт. (1999) [24] и A. L. Jr. Rhoton (2000) [37, 38]. Такой доступ принципиально отличается от заднебокового субокципитального чрезмыщелкового доступа траекторией. Голову пациента укладывают с поворотом до 60°. Разрез кожи осуществляют позади сосцевидного отростка с переходом на шею. Выделяют затылочную кость, дугу и боковую массу C_1. Позвоночную артерию выделяют до поперечного отростка C_1, а затем производят трепанацию

поперечного отростка до артериального канала. Остановка венозного кровотечения легко достигается посредством коагуляции и использования Surgicel. Мелкие ветви сегмента V3 коагулируют и пересекают. Это обеспечивает безопасную резекцию атланто-окципитального сустава и яремного бугорка. Надкостница вокруг позвоночной артерии нередко бывает кальцифицирована, что требует осторожных манипуляций. Выполняют ретросигмовидную краниотомию до БЗО и обнажают сигмовидный синус до луковицы яремной вены. При необходимости осуществляют транспозицию позвоночной артерии, особенно при экстрадуральном распространении менингиомы. Ляминэктомию C_1 и C_2 производят до нижнего полюса опухоли. После этого могут быть удалены экстадуральный компонент менингиомы и измененные костные структуры передних отделов БЗО. Отметим, что от степени опухолевой инвазии зависит объем костной резекции для обеспечения максимального удаления опухоли. Затем вскрывают твердую мозговую оболочку и начинают удаление интрадуральной части опухоли.

Целесообразно использование интраоперационного нейрофизиологического мониторинга соматосенсорных вызванных потенциалов, коротколатентных слуховых вызванных потенциалов и электронейромиографии нижних черепных нервов по записи через интубационную трубку (CN X) и с иглой в грудино-ключично-сосцевидной мышце (CN XI) и языке (CN XII) [15, 35].

H. Bassiouni с соавт. (2006) [26] все доступы оптимально подразделяют на два типа – ретромыщелковые (retrocondylar), когда суставные отростки не резецируются, и чрезмыщелковые (transcondylar), когда производится мыщелковая резекция любого объема.

В последние годы критически оценены как достоинства, так и недостатки этих методов, и многие специалисты стали эффективно использовать менее трудоемкий задний субокципитальный доступ для удаления вентролатеральных и даже вентральных менингиом БЗО [36]. Уровень преходящих послеоперационных осложнений составляет от 39,3 %, перманентных – от 7,1 %. Обычно это дисфункции черепных нервов каудальной группы и ишемические проблемы, связанные с позвоночной артерией. Операционная травма продолговатого мозга бывает редко. Подъязычный нерв и яремная вена чаще всего травмируются при резекции затылочного мыщелка [19, 38].

Заключение. Субокципитальный латерализованный доступ с ляминэктомией до уровня нижнего полюса опухоли обеспечивает адекватное микрохирургическое удаление менингиом области БЗО без резекции атланто-окципитального сочленения. Подход к матриксу новообразования должен осуществляться после частичной резекции опухоли без тракции стволовых отделов мозга. Использование интраоперационного нейромониторинга обеспечивает контроль стволовых функций на всех этапах удаления опухоли и выделения позвоночной артерии.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список использованных источников

1. CBTRUS Statistical Report: Primary Brain and Central Nervous System Tumors Diagnosed in the United States in 2007–2011 / Q. T. Ostrom [et al.] // Neuro-Oncology. – 2014. – Vol. 16, Suppl. 4. – P. iv1–iv63. https://doi.org/10.1093/neuonc/nou223

2. Davis, F. G. Centralized databases available for describing primary brain tumor incidence, survival, and treatment: Central Brain Tumor Registry of the United States; Surveillance, Epidemiology, and End Results; and National Cancer Data Base / F. G. Davis, B. J. McCarthy, M. S. Berger // Neuro-Oncology. – 1999. – Vol. 1, N 3. – P. 205–211. https://doi.org/10.1215/s1522851798000222

3. Incidence and clinicopathological features of meningioma / M. Rohringer [et al.] // J. Neurosurg. – 1989. – Vol. 71, N 5. – P. 665–672. https://doi.org/10.3171/jns.1989.71.5.0665

4. Тиглиев Г. С. Внутричерепные менингиомы / Г. С. Тиглиев, А. Н. Кондратьев, В. Е. Олюшин. – СПб. : Изд-во РНХИ им. А. Л. Поленова, 2001. – 555 с.

5. George, B. Foramen magnum meningiomas: a review from personal experience of 37 cases and from a cooperative study of 106 cases / B. George, G. Lot // Neurosurg. Quarterly. – 1995. – Vol. 5, N 3. – P. 149–167. https://doi.org/10.1097/00013414-199509000-00001

6. Пуцилло, М. В. Нейрохирургическая анатомия. Атлас / М. В. Пуцилло, А. Г. Винокуров, А. И. Белов. – М. : Антидор, 2002–2007. – Т. 1. – 200 с.

7. Boulton, M. R. Foramen magnum meningiomas: concepts, classifications, and nuances / M. R. Boulton, M. D. Cusimano // Neurosurg. Focus. – 2003. – Vol. 14, N 6. – P. 1–8. https://doi.org/10.3171/foc.2003.14.6.10

8. Yaşargil, M. Meningiomas of basal posterior cranial fossa / M. Yaşargil, R. Mortara, M. Curcic // Advances and Technical Standards in Neurosurgery / ed. H. Krayenbühl. – Vienna, 1980. – P. 3–115.

9. Miller, E. Transoral transclival removal of anteriorly placed meningiomas at the foramen magnum / E. Miller, H. A. Crockard // Neurosurgery. – 1987. – Vol. 20, N 6. – P. 966–968. https://doi.org/10.1097/00006123-198706000-00026

10. Arnautović, K. I. Ventral foramen magnum meningiomas / K. I. Arnautović, O. Al-Mefty, M. Husain // J. Neurosurg. : Spine. – 2000. – Vol. 92, N 1. – P. 71–80. https://doi.org/10.3171/spi.2000.92.1.0071

11. Color Atlas of Microneurosurgery / W. T. Koos [et al.]. – Stuttgart : Thieme Medical, 1985. – 420 p.

12. Perneczky, A. The posterolateral approach to the foramen magnum // Surgery in and around the brain stem and the third ventricle / ed. M. Samii. – Berlin, 1986. – P. 460–466.

13. Babu, R. P. Extreme lateral transcondylar approach: technical improvements and lessons learned / R. P. Babu, L. N. Sekhar, D. C. Wright // J. Neurosurg. – 1994. – Vol. 81, N 1. – P. 49–59. https://doi.org/10.3171/jns.1994.81.1.0049

14. Foramen magnum meningiomas: experiences in 114 patients at a single institute over 15 years / Z. Wu [et al.] // Surg. Neurol. – 2009. – Vol. 72, N 4. – P. 376–382. https://doi.org/10.1016/j.surneu.2009.05.006

15. Таняшин, С. В. Методики и результаты хирургического лечения менингиом области большого затылочного отверстия / С. В. Таняшин, С. В. Кондрахов, В. Н. Шиманский // Рос. нейрохирург. журн. им. проф. А. Л. Поленова. – 2016. – Т. 8, № 1. – С. 26–35.

16. Bruneau, M. Foramen magnum meningiomas: detailed surgical approaches and technical aspects at Lariboisière Hospital and review of the literature / M. Bruneau, B. George // Neurosurg. Rev. – 2008. – Vol. 31, N 1. – P. 19–33. https://doi.org/10.1007/s10143-007-0097-1

17. Pamir, M. N. Foramen magnum meningiomas [Electronic resource] / M. N. Pamir, K. Özduman. – Mode of access : http://clinicalgate.com/foramen-magnum-meningiomas/. – Date of access : 18.06.2019.

18. Bruneau, M. Classification system of foramen magnum meningiomas / M. Bruneau, B. George // J. Craniovertebr. Junction Spine. – 2010. – Vol. 1, N 1. – P. 10–17. https://doi.org/10.4103/0974-8237.65476

19. Intraoperative monitoring of foramen occipitalis magnum meningiomas surgery significantly improves the preservation of neurological functions / Y. Shanko [et al.] // Activitas Nervosa Superior Rediviva. – 2015. – Vol. 57, N 3. – P. 72–76.

20. Sohn, S. Conventional posterior approach without far lateral approach for ventral foramen magnum meningiomas / S. Sohn, C. K. Chung // J. Korean Neurosurg. Soc. – 2013. – Vol. 54, N 5. – P. 373–378. https://doi.org/10.3340/jkns.2013.54.5.373

21. Surgical outcomes of craniocervial junction meningiomas: a series of 22 consecutive patients / M. Bydon [et al.] // Clinic. Neurol. Neurosurg. – 2014. – Vol. 117. – P. 71–79. https://doi.org/10.1016/j.clineuro.2013.11.023

22. Microsurgical management of ventral and ventrolateral foramen magnum meningiomas / H. Bertalanffy [et al.] // Modern Neurosurgery of Meningiomas and Pituitary Adenomas. Acta Neurochirurgica / ed. : R. Fahlbusch [et al.]. – Vienna, 1996. – Vol. 65. – P. 82–85.

23. Crockard, H. A. The transoral approach for the management of intradural lesions at the craniovertebral junction: review of 7 cases / H. A. Crockard, C. N. Sen // Neurosurgery. – 1991. – Vol. 28, N 1. – P. 88–98. https://doi.org/10.1227/00006123-199101000-00014

24. Sen, C. N. An extreme lateral approach to intradural lesions of the cervical spine and foramen magnum / C. N. Sen, L. N. Sekhar // Neurosurgery. – 1990. – Vol. 27, N 2. – P. 197–204. https://doi.org/10.1227/00006123-199008000-00004

25. Kratimenos, G. P. The far lateral approach for ventrally placed foramen magnum and upper cervical spine tumours / G. P. Kratimenos, H. A. Crockard // Br. J. Neurosurg. – 1993. – Vol. 7, N 2. – P. 129–140. https://doi.org/10.3109/02688699309103469

26. Foramen magnum meningiomas: clinical outcome after microsurgical resection via a posterolateral suboccipital retrocondylar approach / H. Bassiouni [et al.] // Neurosurgery. – 2006. – Vol. 59, N 6. – P. 1177–1185. https://doi.org/10.1227/01.neu.0000245629.77968.37

27. Lower clivus and foramen magnum anterolateral meningiomas: surgical strategy / B. Pirotte [et al.] // Neurol. Res. – 1998. – Vol. 20, N 7. – P. 577–584. https://doi.org/10.1080/01616412.1998.11740567

28. Midline and far lateral approaches to foramen magnum lesions / B. S. Sharma [et al.] // Neurol India. – 1999. – Vol. 47, N 4. – P. 268–271.

29. Kandenwein, J. A. Foramen magnum meningiomas – experience with the posterior suboccipital approach / J. A. Kandenwein, H.-P. Richter, G. Antoniadis // Br. J. Neurosurg. – 2009. – Vol. 23, N 1. – P. 33–39. https://doi.org/10.1080/02688690802545932

30. Meningiomas of the ventral foramen magnum and lower clivus: factors influencing surgical morbidity, the extent of tumour resection, and tumour recurrence / T. Kano [et al.] // Acta Neurochir. – 2010. – Vol. 152, N 1. – P. 79–86. https://doi.org/10.1007/s00701-009-0511-2

31. Surgical management of foramen magnum meningiomas / L. A. B. Borba [et al.] // Neurosurg Rev. – 2009. – Vol. 32, N 1. – P. 49–60. https://doi.org/10.1007/s10143-008-0161-5

32. Surgical management of foramen magnum meningiomas / S. N. Nair [et al.] // Neurosurg. Quarterly. – 2012. – Vol. 22, N 4. – P. 220–225. https://doi.org/10.1097/wnq.0b013e3182569227

33. Краниовертебральная патология / Д. К. Богородинский [и др.] ; под ред. Д. К. Богородинского, А. А. Скоромца. – М. : ГЭОТАР-Медиа, 2008. – 285 с.

34. Meningiomas of the foramen magnum / B. M. Stein [et al.] // J. Neurosurg. – 1963. – Vol. 20, N 9. – P. 740–751. https://doi.org/10.3171/jns.1963.20.9.0740

35. Arnautović, K. I. Ventral foramen magnum meningiomas / K. I. Arnautović, O. Al-Mefty, M. Husain // J. Neurosurg. : Spine. – 2000. – Vol. 92, N 1. – P. 71–80. https://doi.org/10.3171/spi.2000.92.1.0071

36. Goel, A. Surgery on anterior foramen magnum meningiomas using a conventional posterior suboccipital approach: a report on an experience with 17 cases / A. Goel, K. Desai, D. Muzumdar // Neurosurgery. – 2001. – Vol. 49, N 1. – P. 102–107. https://doi.org/10.1227/00006123-200107000-00016

37. Rhoton, A. L. The far-lateral approach and its transcondylar, supracondylar and paracondylar extensions / A. L. Rhoton // Neurosurgery. – 2000. – Vol. 47, Suppl. 3. – P. S195–S209. https://doi.org/10.1093/neurosurgery/47.3.s195

38. Variations of the extreme-lateral craniocervical approach: anatomical study and clinical analysis of 69 patients / E. Salas [et al.] // J. Neurosurg. : Spine. – 1999. – Vol. 90, N 1. – P. 206–219. https://doi.org/10.3171/spi.1999.90.2.0206

References

1. Ostrom Q. T., Gittleman H., Liao P., Rouse C., Chen Y., Dowling J., Wolinsky Y., Kruchko C., Barnholtz-Sloan J. CBTRUS Statistical Report: Primary Brain and Central Nervous System Tumors Diagnosed in the United States in 2007–2011. *Neuro-Oncology*, 2014, vol. 16, suppl. 4, pp. iv1–iv63. https://doi.org/10.1093/neuonc/nou223

2. Davis F. G., McCarthy B. J., Berger M. S. Centralized databases available for describing primary brain tumor incidence, survival, and treatment: Central Brain Tumor Registry of the United States; Surveillance, Epidemiology, and End Results; and National Cancer Data Base. *Neuro-Oncology*, 1999, vol. 1, no. 3, pp. 205–211. https://doi.org/10.1215/s1522851798000222

3. Rohringer M., Sutherland G. R., Louw D. F., Sima A. A. F. Incidence and clinicopathological features of meningioma. *Journal of Neurosurgery*, 1989, vol. 71, no. 5, pp. 665–670. https://doi.org/10.3171/jns.1989.71.5.0665

4. Tigliev G. S., Kondrat'ev A. N., Olyushin V. E. *Intracranial meningiomas*. St. Petersburg, Publishing house of the Russian Research Neurosurgical Institute named after A. L. Polenov, 2001. 555 p. (in Russian).

5. George B., Lot G. Foramen magnum meningiomas: A review from personal experience of 37 cases and from a cooperative study of 106 cases. *Neurosurgery Quarterly*, 1995, vol. 5, no. 3, pp. 149–167. https://doi.org/10.1097/00013414-199509000-00001

6. Putsillo M. V., Vinokurov A. G., Belov A. I. *Neurosurgery anatomy. Atlas. Vol. 1.* Moscow, Antidor, 2002. 200 p. (in Russian).

7. Boulton M. R., Cusimano M. D. Foramen magnum meningiomas: concepts, classifications, and nuances. *Neurosurgical Focus*, 2003, vol. 14, no. 6, pp. 1–8. https://doi.org/10.3171/foc.2003.14.6.10

8. Yaşargil M., Mortara R., Curcic M. Meningiomas of basal posterior cranial fossa. *Advances and Technical Standards in Neurosurgery*. Vienna, 1980, pp. 3–115.

9. Miller E., Crockard H. A. Transoral transclival removal of anteriorly placed meningiomas at the foramen magnum. *Neurosurgery*, 1987, vol. 20, no. 6, pp. 966–968. https://doi.org/10.1097/00006123-198706000-00026

10. Arnautović K. I., Al-Mefty O., Husain M. Ventral foramen magnum meningiomas. *Journal of Neurosurgery: Spine*, 2000, vol. 92, no. 1, pp. 71–80. https://doi.org/10.3171/spi.2000.92.1.0071

11. Koos W. T., Spetzler R. F., Pendl G., Permeczky A., Lang J. *Color Atlas of Microneurosurgery*. Stuttgart, Thieme Medical, 1985. 420 p.

12. Perneczky A. The posterolateral approach to the foramen magnum. *Surgery in and around the brain stem and the third ventricle*. Berlin, 1986, pp. 460–466.

13. Babu R. P., Sekhar L. N., Wright D. C. Extreme lateral transcondylar approach: technical improvements and lessons learned. *Journal of Neurosurgery*, 1994, vol. 81, no. 1, pp. 49–59. https://doi.org/10.3171/jns.1994.81.1.0049

14. Wu Z., Hao S., Zhang J., Zhang L., Jia G., Tang J., Xiao X., Wang L., Wang Z. Foramen magnum meningiomas: experiences in 114 patients at a single institute over 15 years. *Surgical Neurology*, 2009, vol. 72, no. 4, pp. 376–382. https://doi.org/10.1016/j.surneu.2009.05.006

15. Tanyashin S. V., Kondrakhov S. V., Shimanskii V. N. Methods and results of surgical treatment of foramen magnusm meningiomas. *Rossiiskii neirokhirurgicheskii zhurnal imeni professora A. L. Polenova* [Russian neurosurgical journal named after professor A. L. Polenov], 2016, vol. 8, no. 1, pp. 26–35 (in Russian).

16. Bruneau M., George B. Foramen magnum meningiomas: detailed surgical approaches and technical aspects at Lariboisière Hospital and review of the literature. *Neurosurgical Review*, 2008, vol. 31, no. 1, pp. 19–33. https://doi.org/10.1007/s10143-007-0097-1

17. Pamir M. N., Özduman K. *Foramen magnum meningiomas*. Available at: http://clinicalgate.com/foramen-magnum-meningiomas/ (accessed 18.06.2019).

18. Bruneau M., George B. Classification system of foramen magnum meningiomas. *Journal of Craniovertebral Junction and Spine*, 2010, vol. 1, no. 1, pp. 10–17. https://doi.org/10.4103/0974-8237.65476

19. Shanko Y., Smeyanovich A., Bulgak V., Rodzich A. Intraoperative monitoring of foramen occipitalis magnum meningiomas surgery significantly improves the preservation of neurological functions. *Activitas Nervosa Superior Rediviva*, 2015, vol. 57, no. 3, pp. 72–76.

20. Sohn S., Chung C. K. Conventional Posterior approach without far lateral approach for ventral foramen magnum meningiomas. *Journal of Korean Neurosurgical Society*, 2013, vol. 54, no. 5, pp. 373–378. https://doi.org/10.3340/jkns.2013.54.5.373

21. Bydon M., Ma T. M., Xu R., Weingart J., Olivi A., Gokaslan Z. L., Tamargo R. J., Brem H., Bydon A. Surgical outcomes of craniocervial junction meningiomas: a series of 22 consecutive patients. *Clinical Neurology and Neurosurgery*, 2014, vol. 117, pp. 71–79. https://doi.org/10.1016/j.clineuro.2013.11.023

22. Bertalanffy H., Gilsbach J. M., Mayfrank L., Klein H. M., Kawase T., Seeger W. Microsurgical management of ventral and ventrolateral foramen magnum meningiomas. *Modern Neurosurgery of Meningiomas and Pituitary Adenomas. Acta Neurochirurgica. Vol. 65.* Vienna, 1996, pp. 82–85.

23. Crockard H. A., Sen C. N. The transoral approach for the management of intradural lesions at the craniovertebral junction: review of 7 cases. *Neurosurgery*, 1991, vol. 28, no. 1, pp. 88–98. https://doi.org/10.1227/00006123-199101000-00014

24. Sen C. N., Sekhar L. N. An extreme lateral approach to intradural lesions of the cervical spine and foramen magnum. *Neurosurgery*, 1990, vol. 27, no. 2, pp. 197–204. https://doi.org/10.1227/00006123-199008000-00004

25. Kratimenos G. P., Crockard H. A. The far lateral approach for ventrally placed foramen magnum and upper cervical spine tumours. *British Journal of Neurosurgery*, 1993, vol. 7, no. 2, pp. 129–140. https://doi.org/10.3109/02688699309103469

26. Bassiouni H., Ntoukas V., Asgari S., Sandalcioglu E. I., Stolke D., Seifert V. Foramen magnum meningiomas: clinical outcome after microsurgical resection via a posterolateral suboccipital retrocondylar approach. *Neurosurgery*, 2006, vol. 59, no. 6, pp. 1177–1185. https://doi.org/10.1227/01.neu.0000245629.77968.37

27. Pirotte B., David Ph., Noterman J., Brotchi J. Lower clivus and foramen magnum anterolateral meningiomas: surgical strategy. *Neurological Research*, 1998, vol. 20, no. 7, pp. 577–584. https://doi.org/10.1080/01616412.1998.11740567

28. Sharma B. S., Gupta S. K., Khosla V. K., Mathuriya S. N., Khandelwal N., Pathak A., Tewari M. K., Kak V. K. Midline and far lateral approaches to foramen magnum lesions. *Neurology India*, 1999, vol. 47, no. 4, pp. 268–271.

29. Kandenwein J. A., Richter H.-P., Antoniadis G. Foramen magnum meningiomas – experience with the posterior suboccipital approach. *British Journal of Neurosurgery*, 2009, vol. 23, no. 1, pp. 33–39. https://doi.org/10.1080/02688690802545932

30. Kano T., Kawase T., Horiguchi T., Yoshida K. Meningiomas of the ventral foramen magnum and lower clivus: factors influencing surgical morbidity, the extent of tumour resection, and tumour recurrence. *Acta Neurochirurgica*, 2010, vol. 152, no. 1, pp. 79–86. https://doi.org/10.1007/s00701-009-0511-2

31. Borba L. A. B., de Oliveira J. G., Giudicissi-Filho M., Colli B. O. Surgical management of foramen magnum meningiomas. *Neurosurgical Review*, 2009, vol. 32, no. 1, pp. 49–60. https://doi.org/10.1007/s10143-008-0161-5

32. Nair S. N., Vikas V., Gopalakrishnan C. V., Menon G. Surgical management of foramen magnum meningiomas. *Neurosurgery Quarterly*, 2012, vol. 22, no. 4, pp. 220–225. https://doi.org/10.1097/wnq.0b013e3182569227

33. Borodinskii D. K., Skoromets A. A. (ed.). *Craniovertebral pathology.* Moscow, GEOTAR-Media Publ., 2008. 285 p. (in Russian).

34. Stein B. M., Leeds N. E., Taveras J. M., Pool J. L. Meningiomas of the foramen magnum. *Journal of Neurosurgery*, 1963, vol. 20, no. 9, pp. 740–751. https://doi.org/10.3171/jns.1963.20.9.0740

35. Arnautović K. I., Al-Mefty O., Husain M. Ventral foramen magnum meningiomas. *Journal of Neurosurgery: Spine*, 2000, vol. 92, no. 1, pp. 71–80. https://doi.org/10.3171/spi.2000.92.1.0071

36. Goel A., Desai K., Muzumdar D. Surgery on anterior foramen magnum meningiomas using a conventional posterior suboccipital approach: a report on an experience with 17 cases. *Neurosurgery*, 2001, vol. 49, no. 1, pp. 102–107. https://doi.org/10.1227/00006123-200107000-00016

37. Rhoton A. L. The far-lateral approach and its transcondylar, supracondylar and paracondylar extensions. *Neurosurgery*, 2000, vol. 47, suppl. 3, pp. S195–S209. https://doi.org/10.1093/neurosurgery/47.3.s195

38. Salas E., Sekhar L. N., Ziyal I. M., Caputy A. J., Wright D. C. Variations of the extreme-lateral craniocervical approach: anatomical study and clinical analysis of 69 patients. *Journal of Neurosurgery: Spine*, 1999, vol. 90, no. 1, pp. 206–219. https://doi.org/10.3171/spi.1999.90.2.0206

Информация об авторах

Шанько Юрий Георгиевич – д-р мед. наук, профессор, заместитель директора. Республиканский научно-практический центр неврологии и нейрохирургии (ул. Ф. Скорины, 24, 220114, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: yuri_shanko@hotmail.com

Смеянович Арнольд Федорович – академик, д-р мед. наук, профессор, заведующий отделом. Республиканский научно-практический центр неврологии и нейрохирургии (ул. Ф. Скорины, 24, 220114, г. Минск, Республика Беларусь).

Булгак Владимир Вадимович – заведующий операционным блоком. Республиканский научно-практический центр неврологии и нейрохирургии (ул. Ф. Скорины, 24, 220114, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: vvbulgak@gmail.com

Сыч Екатерина Викторовна – врач-нейрохирург. Республиканский научно-практический центр неврологии и нейрохирургии (ул. Ф. Скорины, 24, 220114, г. Минск, Республика Беларусь).

Танин Андрей Леонидович – канд. мед. наук, доцент. Белорусская медицинская академия последипломного образования (ул. П. Бровки, 3-3, 220013, г. Минск, Республика Беларусь).

Черныш Елена Юрьевна – науч. сотрудник. Республиканский научно-практический центр неврологии и нейрохирургии (ул. Ф. Скорины, 24, 220114, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: laoris@ymail.com

Information about the authors

Yuri G. Shanko – D. Sc. (Med.), Professor, Deputy Director. Republican Research and Clinical Center of Neurology and Neurosurgery (24, F. Skoriny Str., 220114, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: yuri_shanko@hotmail.com

Arnold F. Smeyanovich – Academician, D. Sc. (Med.), Professor, Head of the Department. Republican Research and Clinical Center of Neurology and Neurosurgery (24, F. Skoriny Str., 220114, Minsk, Republic of Belarus).

Vladimir V. Bulgak – Head of the operating unit. Republican Research and Clinical Center of Neurology and Neurosurgery (24, F. Skoriny Str., 220114, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: vvbulgak@gmail.com

Ekaterina V. Sych – Neurosurgeon. Republican Research and Clinical Center of Neurology and Neurosurgery (24, F. Skoriny Str., 220114, Minsk, Republic of Belarus).

Andrey L. Tanin – Ph. D. (Med.), Assistant Professor. Belarusian Medical Academy of Postgraduate Education (3-3, Brovki Str., 220013, Minsk, Republic of Belarus).

Elena Y. Chernysh – Researcher. Republican Research and Clinical Center of Neurology and Neurosurgery (24, F. Skoriny Str., 220114, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: laoris@ymail.com