

# ВЕСЦІ

## НАЦЫЯНАЛЬнай АКАДЭМІІ НАВУК БЕЛАРУСІ

---

СЕРЫЯ МЕДЫЦЫНСКІХ НАВУК. 2019. Том 16, № 4

---

# ИЗВЕСТИЯ

## НАЦИОНАЛЬНОЙ АКАДЕМИИ НАУК БЕЛАРУСИ

---

СЕРИЯ МЕДИЦИНСКИХ НАУК. 2019. Том 16, № 4

---

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 последиplomного 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. Ключник** – 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, № 4  
*Выходит на русском, белорусском и английском языках*

---

Редактор *В. Г. Колосовская*  
Компьютерная верстка *Ю. А. Агейчик*

Подписано в печать 11.11.2019. Выход в свет 27.11.2019. Формат 60×84 1/8. Бумага офсетная.  
Печать цифровая. Усл. печ. л. 14,88. Уч.-изд. л. 16,4. Тираж 42 экз. Заказ 274.  
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

# PROCEEDINGS

## OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF BELARUS

---

MEDICAL SERIES, 2019, vol. 16, no. 4

---

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** (*Associate Editor-in-Chief*) – 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.*

---

PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF BELARUS.  
Medical series, 2019, vol. 16, no. 4.

*Printed in Russian, Belarusian and English languages*

---

Editor *V. G. Kolosovskaya*  
Computer imposition *Y. A. Aheichyk*

It is sent of the press 11.11.2019. Appearance 27.11.2019. Format 60×84 <sup>1</sup>/<sub>8</sub>. Offset paper. The press digital.  
Printed pages 14.88. Publisher's signatures 16.4. Circulation 42 copies. Order 274.  
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

## ***ЗМЕСТ***

### **КЛІНІЧНАЯ І ЭКСПЕРЫМЕНТАЛЬНАЯ МЕДЫЦЫНА**

<b>Карпенко О. В., Горгун Ю. В., Митьковская Н. П., Красько О. В.</b> Эндоскопическая и гистологическая оценка слизистой оболочки желудка у родственников лиц, страдающих раком желудка .....	391
<b>Волошенко А. Н., Сердюченко Н. С., Чайковский А. Р., Скурагович Н. В., Евсеев Г. М.</b> Хирургическое лечение анкилоза тазобедренного сустава .....	404
<b>Бакунович А. А., Астроўскі А. А., Шляхтун А. Г., Мароз В. Л., Астроўская А. Б., Меламед У. Д., Буко В. У.</b> Уплыў кверцэтына і яго камбінацыі з цыкладэкстрынам на загойванне апёкавых ран у лабараторных пацукоў .....	410
<b>Висмонт Ф. И., Чепелев С. Н., Юшкевич П. Ф.</b> Периферические М-холинореактивные системы в реализации инфаркт-лимитирующего эффекта дистантного ишемического посткондиционирования при ишемии-реперфузии миокарда в эксперименте .....	424
<b>Шелкович Ю. Я., Шишко В. И., Мацюк Я. Р., Басинский В. А.</b> Морфологические особенности слизистой оболочки пищевода у пациентов с гастроэзофагеальной рефлюксной болезнью, ассоциированной с синдромом обструктивного апноэ/гипопноэ сна .....	434
<b>Жуковская С. В., Можейко Л. Ф.</b> Влияние различных схем контролируемой овариальной стимуляции на особенности течения синдрома гиперстимуляции яичников в программах экстракорпорального оплодотворения .....	443
<b>Давыдов А. В., Титов Л. П., Хархаль А. Н., Барауля В. Г., Гусакова Ю. В.</b> Связь механизмов генотипической резистентности <i>Streptococcus pneumoniae</i> к антибиотикам с фенотипической резистентностью и серотипами .....	454
<b>Лихачевский Ю. В., Соколовский О. А.</b> Сравнительная оценка результатов задней ротационной и деторсионно-варизирующей остеотомии бедра при II типе деформации по Kalamchi у детей .....	468
<b>Семак Г. Р., Захарова В. А., Клецкий С. К., Летковская Т. А., Жерко И. Ю.</b> Особенности экспрессии биомолекулярных маркеров (CD44, MMP9, TGFβ1) в оценке эффективности лечения эндотелиально-эпителиальной дистрофии роговицы .....	477

### **АГЛЯДЫ**

<b>Суркова Л. К., Бородина Г. Л., Шпаковская Н. С.</b> Саркоидоз органов дыхания: иммунопатогенетические аспекты и диагностические проблемы .....	488
<b>Полулях О. Е., Митюкова Т. А., Мартыненко А. И., Захаревич О. Ю., Марчук С. А.</b> Развитие представлений о детском аутизме: патогенетические механизмы и маркеры .....	499

**CONTENTS****CLINICAL AND EXPERIMENTAL MEDICINE**

<b>Karpenka V. V., Gorgun Ju. V., Mitkovskaya N. P., Krasko V. V.</b> Endoscopic and histological evaluation of the mucous membrane of the stomach in relatives of people suffering from cancer of the stomach.....	391
<b>Voloshenyuk A. N., Serdyuchenko N. S., Tchaikovsky A. R., Skuratovich N. V., Evseev G. M.</b> Surgical treatment of hip ankylosis.....	404
<b>Bakunovich A. A., Astrovski A. A., Shlyahun A. G., Maroz V. L., Astrovskaya X. B., Melamed V. D., Buko V. U.</b> Effect of quercetin and its combination with cyclodextrin on the healing of burn wounds in laboratory rats....	410
<b>Vismont F. I., Chepelev S. N., Jushkevich P. F.</b> Peripheral M-choline-reactive systems in the infarct-limited effect implementation of remote ischemic postconditioning during ischemia-reperfusion of myocardium in experiment.....	424
<b>Shaikovich Y. Y., Shyshko V. I., Matsiuk Y. R., Basinski V. A.</b> Morphological features of esophageal mucosa damage in patients with the gastroesophageal reflux disease associated with the obstructive sleep apnea/hypopnea syndrome .....	434
<b>Zhukovskaya S. V., Mozhejko L. F.</b> Influence of controlled ovarian stimulation protocols on ovarian hyperstimulation syndrome patterns during <i>in vitro</i> fertilization programs.....	443
<b>Davydov A. V., Titov L. P., Kharkhal A. N., Baraulya V. G., Guskova Y. V.</b> Association between molecular mechanisms of antimicrobial resistance, phenotypes and serotypes in <i>Streptococcus pneumoniae</i> .....	454
<b>Likhachevski Y. V., Sakalouski A. A.</b> Comparative evaluation of the results of posterior rotational osteotomy and femoral varus derotation osteotomy at the II type of Kalamchi deformation in children.....	468
<b>Semak G. R., Zakharova V. A., Kletsky S. K., Letkovskaya T. A., Zherko I. Yu.</b> Features of the expression of biomolecular markers (CD44, MMP9, TGF $\beta$ 1) in assessing the effectiveness of treatment of endothelial-epithelial corneal dystrophy .....	477

**REVIEWS**

<b>Surkova L. K., Borodina G. L., Shpakovskaya N. S.</b> Respiratory sarcoidosis: immunopathogenetic aspects and diagnostic problems.....	488
<b>Poluliakh O. E., Mityukova T. A., Martynenko A. I., Zakharevich O. Y., Marchuk S. A.</b> Development of the concepts of childhood autism: pathogenetic mechanisms and markers.....	499

**КЛІНІЧНАЯ І ЭКСПЕРЫМЕНТАЛЬНАЯ МЕДЫЦЫНА**  
**CLINICAL AND EXPERIMENTAL MEDICINE**

УДК 616.33-006.6-018-072.1  
<https://doi.org/10.29235/1814-6023-2019-16-4-391-403>

Поступила в редакцию 04.07.2019  
Received 04.07.2019

**О. В. Карпенко<sup>1</sup>, Ю. В. Горгун<sup>2</sup>, Н. П. Митьковская<sup>1</sup>, О. В. Красько<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>Белорусский государственный медицинский университет, Минск, Республика Беларусь

<sup>2</sup>Оберхавель Клиники, Ораниебург, Германия

<sup>3</sup>Объединенный институт проблем информатики НАН Беларуси, Минск, Республика Беларусь

**ЭНДОСКОПИЧЕСКАЯ И ГИСТОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ  
ЖЕЛУДКА У РОДСТВЕННИКОВ ЛИЦ, СТРАДАЮЩИХ РАКОМ ЖЕЛУДКА**

**Аннотация.** Проведена оценка состояния слизистой оболочки желудка у родственников лиц, страдающих раком желудка (РЛРЖ). В исследование были включены 108 РЛРЖ (основная группа) и 102 пациента без семейного анамнеза рака желудка, проходивших обследование по поводу диспепсии. Все участники исследования проходили клинический осмотр, анкетирование и подвергались эзофагогастроуденоскопии с биопсией для оценки состояния слизистой оболочки желудка в соответствии с модифицированной Сиднейской системой, системами OLGA и OLGIM, а также для определения наличия инфекции *Helicobacter pylori* (*H. pylori*). Установлено, что распространенность инфекции *H. pylori* в основной группе составила 58,3 % (95 % ДИ 48,8–67,7), в контрольной – 56,0 % (95 % ДИ 46,1–65,6). У РЛРЖ достоверно чаще, чем в контроле, обнаруживалась атрофия любой локализации (46,3 % (95 % ДИ 39,4–53,2) против 26,5 % (95 % ДИ 20,4–32,6) соответственно,  $p = 0,002$ ), антральный атрофический гастрит (41,6 % (95 % ДИ 34,8–48,4) против 26,5 % (95 % ДИ 20,4–32,6) соответственно,  $p = 0,020$ ), а также изолированная атрофия в теле желудка (4,6 % (95 % ДИ 1,7–7,4) против 0 % ( $p = 0,03$ )). У РЛРЖ атрофия развивалась в более молодом возрасте (48,0 года (95 % ДИ 44,0–52,0) против 53,0 года в контрольной группе (95 % ДИ 48,3–57,8),  $p < 0,001$ ). По частоте выявления метаплазии и дисплазии значимых различий между пациентами групп не обнаружено. По результатам многофакторного анализа установлены следующие факторы риска развития атрофии: возраст старше 60 лет (отношение шансов (ОШ) 53,0; 95 % ДИ 12,2–390,1;  $p < 0,001$ ), возраст старше 40 лет (ОШ 4,0; 95 % ДИ 2,0–8,2;  $p < 0,001$ ), наследственность, отягощенная по раку желудка (ОШ 2,7; 95 % ДИ 1,4–5,7;  $p = 0,006$ ) и употребление крепких алкогольных напитков (ОШ 5,5; 95 % ДИ 1,6–21,6;  $p = 0,009$ ). Согласно полученным данным, у РЛРЖ повышена частота развития атрофии слизистой оболочки желудка, причем атрофический гастрит развивается достоверно раньше, чем у лиц без отягощенного наследственного анамнеза. Кроме наследственного фактора риск развития атрофии ассоциирован с возрастом и употреблением алкоголя.

**Ключевые слова:** рак желудка, скрининг, семейный анамнез, хронический гастрит, атрофия, метаплазия, дисплазия, *H. pylori*, факторы риска

**Для цитирования:** Эндоскопическая и гистологическая оценка слизистой оболочки желудка у родственников лиц, страдающих раком желудка / О. В. Карпенко [др.] // Вест. Нац. акад. наук Беларусі. Сер. мед. навук. – 2019. – Т. 16, № 4. – С. 391–403. <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2019-16-4-391-403>

**V. V. Karpenka<sup>1</sup>, Ju. V. Gorgun<sup>2</sup>, N. P. Mitkovskaya<sup>1</sup>, V. V. Krasko<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>Belarusian State Medical University, Minsk, Republic of Belarus

<sup>2</sup>Oberhavel Kliniken, Oranienburg, Germany

<sup>3</sup>United Institute of Informatics Problems of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus

**ENDOSCOPIC AND HISTOLOGICAL EVALUATION OF THE MUCOUS MEMBRANE OF THE STOMACH  
IN RELATIVES OF PEOPLE SUFFERING FROM CANCER OF THE STOMACH**

**Abstract.** The condition of gastric mucosa was assessed in relatives of patients with gastric cancer (RPGC). The study included 108 RPGC (main group) and 102 patients with no family history of gastric cancer who were screened for dyspepsia. All study participants were subjected to clinical examination, questioning and esophagogastroduodenoscopy (EGDS) with a biopsy, in which the gastric mucosa state was assessed according to the modified Sydney system, the OLGA and OLGIM systems, and the definition of *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) infection. It was established that the prevalence of *H. pylori*

infection in the main group was 58.3 % (95 % CI 48.8–67.7), in the control group – 56.0 % (95 % CI 46.1–65.6). At RPGC, atrophy of any localization (46.3 % (95 % CI 39.4–53.2) versus 26.5 % (95 % CI 20.4–32.6), respectively, was found more often than in the control group, respectively,  $p = 0.002$ ), antral atrophic gastritis (41.6 % (95 % CI 34.8–48.4) versus 26.5 % (95 % CI 20.4–32.6), respectively,  $p = 0.020$ ), and isolated atrophy in the stomach body (4.6 % (95 % CI 1.7–7.4) versus 0 % ( $p = 0.03$ )). In RPGC, atrophy developed at a younger age (48.0 years (95 % CI 44.0–52.0) versus 53.0 years in the control group (95 % CI 48.3–57.8)  $p = 0.000$ ). There were no significant differences between the groups in the incidence of metaplasia and dysplasia. The following risk factors for development of atrophy were identified in the factor analysis: age over 60 years (odds ratio (OR) 53.0; 95 % CI 12.2–390.1;  $p < 0.001$ ), age over 40 years (OR 4.0; 95 % CI 2.0–8.2;  $p < 0.001$ ), heredity burdened by gastric cancer (OR 2.7; 95 % CI 1.4–5.7;  $p = 0.006$ ) and the use of strong alcoholic beverages (OR 5.5; 95 % CI 1.6–21.6;  $p = 0.009$ ). The frequency of the atrophy development of the gastric mucosa is increased in RPGC, and atrophic gastritis develops at a younger age in comparison with individuals without a burdened hereditary history. In addition to the hereditary factor, the risk of atrophy is associated with age and alcohol use.

**Keywords:** gastric cancer, screening, family history, chronic gastritis, atrophy, metaplasia, dysplasia, *H. pylori*, risk factors

**For citation:** Karpenka V. V., Gorgun Ju. V., Mitkovskaya N. P., Krasko V. V. Endoscopic and histological evaluation of the mucous membrane of the stomach in relatives of people suffering from cancer of the stomach. *Vesti Natsyonal'nai akademii navuk Belarusi. Seriya meditsinskikh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2019, vol. 16, no. 4, pp. 391–403 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2019-16-4-391-403>

**Введение.** Несмотря на развитие и внедрение в повседневную практику новых диагностических методик, рак желудка (РЖ) является одной из наиболее актуальных проблем современной медицины, занимая пятое место в мире среди всех форм рака по заболеваемости и третье место по смертности [1–7]. Высокая заболеваемость РЖ, отсутствие специфичных ранних симптомов, несвоевременная диагностика и, как следствие, низкая эффективность лечения определяют высокую смертность [1–5]. Показатели смертности существенно зависят от стадии, на которой диагностируется заболевание. Внедрение скрининговых программ в странах с высокой заболеваемостью РЖ позволяет существенно увеличить долю случаев рака, диагностируемых на ранней стадии и, таким образом, улучшить прогноз. В настоящее время основным фактором риска, определяющим включение населения в скрининг РЖ, является возраст. Однако в связи с высокими затратами, необходимыми для проведения эндоскопического исследования больших групп населения, а также инвазивным характером данного метода диагностики обсуждается необходимость определения дополнительных критериев, позволяющих сузить показания для эндоскопического скрининга [6, 7].

Известно, что РЖ у РЛРЖ встречается чаще, чем в общей популяции [4–9]. Полагают, что неблагоприятное сочетание вирулентности *H. pylori* и генетической восприимчивости хозяина ведет к более тяжелому хроническому воспалению и более быстрому прогрессированию РЖ, по крайней мере в случаях РЖ интестинального типа [2–9]. Однако в настоящее время наследственный фактор не учитывается при определении показаний для включения в скрининговые программы и последующего наблюдения, а вопрос о целесообразности разработки особых программ наблюдения для лиц с отягощенным семейным анамнезом не изучен. Есть основания думать, что у РЛРЖ связанные с *H. pylori* инфекцией предраковые изменения встречаются чаще, чем в контрольной группе [4–11], однако существующие исследования по оценке гистологического состояния слизистой оболочки желудка у РЛРЖ немногочисленны, носят противоречивый характер и, как правило, не включают использование современных систем стадирования предраковых изменений желудка, позволяющих стратифицировать пациентов по риску развития РЖ [7–19].

Цель данного исследования – оценить состояние слизистой оболочки желудка у родственников лиц, страдающих раком желудка, и изучить факторы риска развития предопухолевых состояний желудка.

**Материалы и методы исследования. Пациенты.** В основную группу были включены РЛРЖ. Для ее формирования в период с августа 2013 г. по июль 2018 г. проводили анкетирование 107 пациентов с установленным диагнозом РЖ, проходивших лечение в учреждениях здравоохранения (УЗ) «Гомельский областной клинический онкологический диспансер» и «Минский городской клинический онкологический диспансер». Все взрослые родственники первой и второй степени родства (братья, сестры, родители, дети, внуки), указанные пациентами в анкете, рассматривались как потенциальные участники основной группы. Участие в исследовании было предложено

244 РЛРЖ, из них 108 человек выразили согласие на включение в исследование и были обследованы на базе поликлинического отделения государственного учреждения «Республиканский научно-практический центр радиационной медицины и экологии человека» (ГУ РНПЦ «РМ и ЭЧ») г. Гомеля ( $n = 54$ ) и УЗ «Минский клинический консультативно-диагностический центр» (УЗ «МККДЦ») ( $n = 54$ ). Из всех РЛРЖ 72 (66,7 %) человека были детьми пациентов с РЖ, 13 (12,0 %) – братьями или сестрами, 1 (0,9 %) – родителем, 22 (20,4 %) – родственниками второй степени родства. Более чем 1 родственника с установленным РЖ имели 19 (17,6 %) человек.

Контрольная группа состояла из пациентов ( $n = 102$ ) с симптомами диспепсии, не имеющих в анамнезе ни онкологических либо предопухолевых заболеваний желудка, ни указаний на отягощенный по РЖ наследственный анамнез.

В обе группы были включены лица в возрасте от 18 до 75 лет. Критериями исключения являлись отказ пациента от участия или наличие противопоказаний для проведения эзофагогастродуоденоскопии (ЭГДС). Все участники, включенные в исследование, подписали форму информированного согласия, одобренную комитетами по этике ГУ РНПЦ «РМ и ЭЧ» г. Гомеля и УЗ «МККДЦ».

*Анкетирование.* Все участники исследования прошли клиническое собеседование на основе структурированной анкеты. Анкета включала вопросы, касающиеся демографических данных, наличия и характеристики симптомов диспепсии, сопутствующих заболеваний, анамнеза эрадикации *H. pylori*, особенностей образа жизни, влияющих на риск развития РЖ (употребление алкоголя, курение, потребление фруктов/овощей и соли), а также наследственного анамнеза (в том числе наличие родственников с установленным РЖ).

*Эзофагогастродуоденоскопия.* Всем участникам исследования назначалась ЭГДС, проводившаяся по стандартной методике аппаратом Olympus GIF XQ40. ЭГДС сопровождалась биопсией слизистой оболочки из пяти точек желудка: 1) антрального отдела по малой кривизне в 2 см от пилоруса; 2) антрального отдела по большой кривизне в 2 см от пилоруса; 3) угла желудка; 4) тела желудка по малой кривизне примерно в 8 см от кардии; 5) тела желудка по большой кривизне области, противоположной точке 4. Кроме того, при обнаружении очаговых изменений проводили также биопсию из измененных участков. Биоптаты из каждого отдела желудка помещали в отдельные флаконы. При взятии биопсийного материала использовали разработанную авторами биопсийную карту, содержащую краткие клинико-анамнестические сведения о пациенте и формализованное описание эндоскопической картины слизистой оболочки желудка. Состояние последней оценивали по модифицированной Сиднейской системе, а также по системам гистопатологического стадирования OLGA и OLGIM.

*Гистологическое исследование.* Гистологические исследования проводились на базе группы патологоанатомических исследований лаборатории клеточных технологий ГУ РНПЦ «РМ и ЭЧ» и лаборатории клинической патогистологии УЗ «МККДЦ» и выполнялись опытными патологоанатомами. Образцы для гистологического исследования фиксировали в 10 %-ном формалине и заливали в парафин. Из блоков изготавливали гистологические срезы толщиной 4 мкм, которые окрашивали гематоксилином и эозином, а для определения *H. pylori* – также и по методу Гимзы (с последующей микроскопией препаратов под иммерсионным 1000-кратным увеличением).

Гастрит оценивали в соответствии с модифицированной Сиднейской системой [20]. Определяли следующие характеристики слизистой оболочки желудка: активность (инфильтрация нейтрофилами), воспаление (инфильтрация лимфоцитами и плазматическими клетками), атрофию (потеря нормальных желез), кишечную (интестинальную) метаплазию (ИМ), дисплазию, наличие *H. pylori*. При их оценке использовали шкалу от 0 (отсутствует/нормальная интенсивность) до 3 (максимальная интенсивность) баллов. Стадию гастрита, характеризующую риск развития РЖ, определяли по системам OLGA (оперативная система оценки гастрита) и OLGIM (оперативная система оценки гастрита, основанная на кишечной метаплазии) от 0 до IV [21].

*Статистический анализ.* Статистическую обработку материала выполняли с помощью программы STATISTICA 8,0. Категориальные переменные (сравнение частот) анализировали с использованием критерия  $\chi^2$  или точного теста Фишера, факторы риска – с помощью многомерной логистической регрессии, результаты которой выражали в виде отношения шансов (ОШ) и 95 %-ного доверительного интервала (ДИ). Различия считали статистически значимыми при  $p < 0,05$ .

**Результаты исследования. Анкетирование.** Демографические и поведенческие факторы в исследуемых группах на момент постановки диагноза представлены в табл. 1. Статистически значимых различий между пациентами групп по возрасту, полу, особенностям образа жизни (курение и употребление алкоголя) не выявлено.

В обеих группах большая часть участников ранее подвергались ЭГДС, при этом около трети лиц получали также антихеликобактерную терапию (АХТ).

Т а б л и ц а 1. Демографические и поведенческие факторы в исследуемых группах на момент постановки диагноза

Table 1. Demographic and behavioral factors in the studied groups at the time of diagnosis

Показатель	Основная группа (n = 108)	Контрольная группа (n = 102)	p
Возраст, лет (медиана Q <sub>25</sub> ; Q <sub>75</sub> )	40,2 (33,2; 51,2)	35,9 (30,5; 49,2)	0,094
Пол:			
мужчины (n, %)	37 (34,3)	31 (30,4)	0,451
женщины (n, %)	71 (65,7)	71 (69,6)	
Курение:			
курят (n, %)	18 (16,6)	12 (11,7)	0,458
бросили (n, %)	11 (10,2)	8 (7,8)	
не курят (n, %)	79 (73,1)	82 (80,4)	
Алкоголь:			
1 раз в месяц и реже (n, %)	71 (65,7)	69 (67,6)	0,769
2 раза в месяц и чаще (n, %)	37 (34,3)	33 (32,4)	
Боль или дискомфорт в животе (n, %)	59 (54,6)	77 (75,5)	0,001
Проведение ранее ЭГДС (n, %)	71 (65,7)	78 (76,5)	0,191
Проведение ранее АХТ (n, %)	26 (24,1)	31 (30,4)	0,629

Пр и м е ч а н и е. Q<sub>25</sub> и Q<sub>75</sub> – 25-й и 75-й квартили соответственно.

**Эндоскопия.** Основные изменения, выявленные визуально в процессе ЭГДС, представлены в табл. 2. У всех пациентов установлено наличие гастропатии различной степени выраженности, без значимого различия в частоте встречаемости у пациентов обеих групп. Не различались также по частоте такие изменения, как полипы, язвы, эрозивная гастроэзофагеальная рефлюксная болезнь (ГЭРБ).

Т а б л и ц а 2. Изменения слизистой оболочки желудка, выявленные при ЭГДС у РЛРЖ и лиц группы контроля, n (%)

Table 2. Gastric mucosa changes revealed during endoscopy performed in RPGC and in the control group persons, n (%)

Эндоскопические изменения слизистой оболочки желудка	Основная группа (n = 108)	Группа контроля (n = 102)	p
Гастропатия:			
эритематозная	93 (86,1)	81 (79,4)	0,197
эрозивная	19 (17,6)	17 (16,6)	0,858
Эрозивная ГЭРБ	12 (11,1)	5 (4,9)	0,099
Полипы желудка	3 (2,7)	2 (1,9)	0,697
Язва желудка или двенадцатиперстной кишки	2 (1,8)	4 (3,9)	0,368

**Гистологическое исследование.** У всех пациентов при гистологическом исследовании было установлено наличие хронического гастрита различной степени выраженности (табл. 3). При сравнении групп по степени активности и выраженности воспаления в антральном отделе и теле желудка значимых различий не выявлено. Атрофия слизистой оболочки желудка любой локализации, а также атрофия антральной слизистой оболочки достоверно чаще определялись в группе РЛРЖ, чем у лиц контрольной группы. Атрофия в теле желудка также наблюдалась чаще

в основной группе, однако это различие не достигало уровня статистической значимости. При этом следует отметить, что атрофия в теле желудка у РЛРЖ носила изолированный характер в 5 из 20 случаев, в то время как в контрольной группе она всегда сочеталась с атрофией в антральном отделе (4,6 % против 0 %,  $p = 0,03$ ).

Таблица 3. Гистологические параметры гастрита у пациентов основной и контрольной групп,  $n$  (%)Table 3. Histological gastritis parameters in the patients of the main and control groups,  $n$  (%)

Показатель	Основная группа ( $n = 108$ )	Контрольная группа ( $n = 102$ )	$p$
Активность в антральном отделе:			
0	7 (6,5)	9 (8,8)	0,566
1	46 (42,6)	34 (33,3)	
2	34 (31,5)	37 (36,3)	
3	21 (19,4)	22 (21,6)	
Активность в теле:			
0	14 (12,9)	17 (16,7)	0,254
1	46 (42,6)	42 (41,2)	
2	32 (29,6)	36 (35,3)	
3	16 (14,8)	7 (6,8)	
Воспаление в антральном отделе:			
0	1 (0,9)	2 (1,9)	0,664
1	43 (39,8)	33 (32,4)	
2	45 (41,7)	48 (47,1)	
3	19 (17,6)	19 (18,6)	
Воспаление в теле:			
0	6 (5,6)	5 (4,9)	0,715
1	41 (37,9)	45 (44,1)	
2	46 (42,6)	36 (35,3)	
3	15 (13,9)	16 (15,7)	
Атрофия:			
всего	50 (46,3)	27 (26,5)	0,002
в антральном отделе	45 (41,6)	27 (26,5)	0,020
в теле	20 (18,5)	12 (11,8)	0,173
Метаплазия:			
всего	22 (20,4)	14 (13,7)	0,201
в антральном отделе	13 (12,0)	11 (10,7)	0,882
в теле	13 (12,0)	7 (6,8)	0,412
Дисплазия:			
в антральном отделе	1 (0,9)	2 (1,9)	0,527
в теле желудка	0 (0,0)	1 (0,9)	0,302
Наличие <i>H. pylori</i> :			
в антральном отделе	63 (58,3)	57 (56,0)	0,719
в теле желудка	58 (53,7)	56 (54,9)	0,244
	54 (50,0)	51 (50,0)	0,524

Показатели частоты выявления и степени тяжести изолированной метаплазии в антральном отделе у пациентов групп исследования не различались. Локализация метаплазии только в теле желудка отмечалась в 9 (8,3 %) случаях в основной группе и в 3 (2,9 %) – в контрольной ( $p = 0,09$ ). В основной группе у 4 (30,8 %) из 13 человек в теле желудка выявлялась метаплазия 2–3-й степени, в контрольной группе – у 1 (14,3 %) из 7 ( $p = 0,02$ ). Метаплазия 3-й степени одновременно в антральном отделе и теле желудка отмечалась только у 1 пациента из основной группы. Эти данные позволяют предположить, что имеет место тенденция к более частому и выраженному развитию метаплазии у лиц с отягощенной наследственностью по РЖ.

Дисплазия была выявлена у 3 лиц (1 из основной и 2 из контрольной группы) и во всех случаях носила легкий характер.

Более чем у половины пациентов обеих групп отмечалась колонизация слизистой оболочки желудка микроорганизмом *H. pylori* ( $p = 0,719$ ). Одновременное обсеменение *H. pylori* в антральном отделе и теле желудка наблюдалось у 50 (46,3 %) РЛРЖ и у 49 (48,0 %) лиц контрольной группы.

Результаты стадирования гастрита по системам OLGA и OLGIM представлены в табл. 4. Стадии I–IV по OLGA определялись у 46,3 % РЛРЖ против 26,5 % пациентов контрольной группы ( $p = 0,002$ ), что соответствует частоте выявления атрофии слизистой оболочки желудка. Стадия гастрита 0 (характеризующаяся отсутствием риска развития РЖ) в основной группе определялась достоверно реже, чем в контрольной. Стадии низкого риска (I–II) у РЛРЖ выявлялись достоверно чаще, а частота диагностирования стадий высокого риска (III–IV) в этой группе имела тенденцию к повышению. При использовании системы OLGIM различий между группами в отношении распределения пациентов по стадиям гастрита выявить не удалось ( $p = 0,201$ ).

Таблица 4. Результаты стадирования гастрита по OLGA и OLGIM,  $n$  (%)Table 4. Gastritis staging results by OLGA and OLGIM,  $n$  (%)

Стадия гастрита	Основная группа ( $n = 108$ )	Контрольная группа ( $n = 102$ )	$p$
Система OLGA:			
0	58 (53,7)	75 (73,5)	0,002
I или II	44 (40,7)	26 (25,5)	0,019
III или IV	6 (5,6)	1 (0,9)	0,065
I–IV	50 (46,3)	27 (26,5)	0,002
Система OLGIM:			
0	86 (79,6)	88 (86,3)	0,201
I или II	19 (17,6)	13 (12,7)	0,328
III или IV	3 (2,8)	1 (0,9)	0,340
I–IV	22 (20,4)	14 (13,7)	0,201

Средний возраст пациентов с атрофией слизистой оболочки желудка в группе РЛРЖ составил 48,0 года (95 % ДИ 44,0–52,0), в контрольной группе – 53,0 года (95 % ДИ 48,3–57,8) ( $p < 0,001$ ). Выявление гастрита стадий низкого риска (I–II) соответствовало среднему возрасту 46,9 года (95 % ДИ 42,7–51,2) в основной группе и 52,9 года (95 % ДИ 48,0–57,8) в контрольной группе ( $p = 0,002$ ), что отражает более раннее развитие атрофии у лиц сотягощенной наследственностью по РЖ.

*Оценка предраковых изменений слизистой оболочки желудка.* Атрофию, кишечную метаплазию и дисплазию рассматривают как предраковые изменения желудка [6–15].

Распространенность атрофии слизистой оболочки желудка (атрофического гастрита – АГ) среди всех обследуемых лиц составила 36,6 % (77/210; 95 % ДИ 30,0–43,2), а кишечной метаплазии (ИМ) – 17,1 % (36/210; 95 % ДИ 11,9–22,3). По результатам однофакторного анализа наличие АГ не зависело от пола ( $p = 0,355$ ), наличия на момент обследования *H. pylori* ( $p = 0,251$ ), эрадикации в анамнезе ( $p = 0,472$ ), курения ( $p = 0,533$ ), употребления алкогольных напитков 2 раза в месяц и чаще ( $p = 0,265$ ), симптомов диспепсии (боль в эпигастрии) ( $p = 0,546$ ), употребления соли ( $p = 0,102$ ) и фруктов ( $p = 0,125$ ), а также отягощенной наследственности по раку другой локализации ( $p = 0,415$ ). При этом установлена связь наличия атрофии с возрастом ( $p < 0,001$ ), массой тела ( $p < 0,001$ ), отягощенной наследственностью по РЖ ( $p = 0,002$ ), а также употреблением крепких алкогольных напитков ( $p < 0,001$ ) и выявлением гипергликемии ( $p = 0,001$ ). В табл. 5 представлена частота АГ в зависимости от наличия этих факторов риска.

При однофакторном анализе факторов риска для ИМ выявлена взаимосвязь с возрастом старше 40 лет ( $p < 0,001$ ), ожирением (ИМТ  $> 30$ ) ( $p = 0,009$ ), наличием гипергликемии ( $p < 0,001$ ). Частота ИМ в зависимости от присутствия указанных факторов риска представлена в табл. 6. Пол ( $p = 0,338$ ), наличие *H. pylori* на момент обследования ( $p = 0,516$ ), эрадикация в анамнезе ( $p = 0,335$ ), а также курение ( $p = 0,407$ ), присутствие симптомов диспепсии ( $p = 0,522$ ), отягощенная по РЖ ( $p = 0,199$ ) и раку другой локализации ( $p = 0,148$ ) наследственность, потребление соли ( $p = 0,113$ ), овощей или фруктов ( $p = 0,513$ ) не влияли на выявление ИМ.

Таблица 5. Частота атрофического гастрита в зависимости от наличия факторов риска, выявленных при однофакторном анализе

Table 5. Atrophic gastritis frequency depending on the presence of risk factors identified by the univariate analysis

Фактор риска	Частота АГ, n/N (%)		p
	при наличии факторов риска	при отсутствии факторов риска	
Возраст 40 лет и старше	57/98 (58,2)	20/112 (17,9)	<0,001
ИМТ выше нормы (>25)	57/118 (48,3)	20/92 (21,7)	<0,001
Глюкоза $\geq$ 6 ммоль/л	13/18 (72,2)	64/192 (33,3)	<0,001
Наследственность, отягощенная по РЖ	50/108 (46,3)	27/102 (26,5)	0,002
Употребление крепких алкогольных напитков	35/63 (55,5)	42/146 (28,6)	0,001

Примечание. ИМТ – индекс массы тела, n – количество пациентов с атрофическим гастритом, N – общее количество пациентов указанной категории.

Таблица 6. Частота интестинальной метаплазии в зависимости от наличия факторов риска, выявленных при однофакторном анализе, n (%)

Table 6. Intestinal metaplasia frequency depending on the presence of risk factors identified by the univariate analysis, n (%)

Фактор риска	Частота ИМ		p
	при наличии факторов риска	при отсутствии факторов риска	
Возраст 40 лет и старше	27/98 (27,6)	9/112 (8,0)	< 0,001
ИМТ:			
> 25	26/118 (22,0)	10/92 (10,8)	0,018
> 30	15/51 (29,4)	21/159 (13,2)	0,009
Употребление крепких алкогольных напитков	18/63 (28,6)	18/146 (12,2)	0,015

Для проведения многофакторного анализа были использованы факторы риска, установленные в ходе однофакторного анализа. Для развития атрофии слизистой оболочки по результатам многофакторного анализа значимыми независимыми факторами риска оказались возраст старше 40 лет ( $p < 0,001$ ), употребление крепких алкогольных напитков ( $p = 0,009$ ), а также наследственность, отягощенная по РЖ (табл. 7).

Таблица 7. Значимые независимые факторы риска развития атрофии слизистой оболочки желудка

Table 7. Significant independent risk factors for the development of atrophy of the gastric mucosa

Фактор риска	ОШ	95 % ДИ	p
Возраст 40–59 лет	4,0	2,0–8,2	<0,001
Возраст 60 лет и старше	53,0	12,2–390,1	<0,001
Наследственность, отягощенная по РЖ	2,7	1,4–5,7	0,006
Употребление крепких алкогольных напитков	5,5	1,6–21,6	0,009

Примечание. ОШ – отношение шансов.

Независимыми факторами риска развития ИМ по результатам многофакторного анализа оказались только возраст старше 40 лет ( $p < 0,001$ ) и употребление крепких алкогольных напитков ( $p = 0,009$ ) (табл. 8).

Таблица 8. Значимые независимые факторы риска развития интестинальной метаплазии слизистой оболочки желудка

Table 8. Significant independent risk factors for the development of intestinal metaplasia of the gastric mucosa

Фактор риска	ОШ	95 % ДИ	p
Возраст старше 40 лет	4,27	1,87–10,61	0,001
Употребление крепких алкогольных напитков	6,48	2,85–15,09	0,001

**Обсуждение.** По результатам макроскопической оценки слизистой оболочки верхних отделов желудочно-кишечного тракта (наличие гастропатии, полипов, язв, эрозивной ГЭРБ) значимых различий между пациентами двух групп выявлено не было, что согласуется с данными других авторов [18]. Пациенты исследуемых групп также не отличались по таким гистологическим характеристикам, как активность и выраженность воспаления в антральном отделе и теле желудка. Со сходной частотой определялась и колонизация слизистой оболочки желудка *H. pylori* – у 58,3 % (95 % ДИ 48,8–67,7) РЛРЖ и у 56,0 % (95 % ДИ 46,1–65,6) лиц контрольной группы. Указанные данные сходны с таковыми для взрослого населения Республики Беларусь. Так, по результатам исследования, проведенного у призывников и военнослужащих срочной службы (18–26 лет) с симптомами диспепсии, частота выявления *H. pylori* составляла 59,3 % [22]. Близкие значения инфицированности наблюдались и у пациентов с установленным хроническим гастритом по результатам молекулярно-генетического исследования, проведенного в ГУ РНПЦ «РМ и ЭЧ» – 136 (54,4 %) из 250 [23]. По данным других исследований, частота выявления *H. pylori* у жителей Беларуси может достигать и более высоких значений [24]. Возможно, установленная в нашем исследовании инфицированность относительно невелика, поскольку 25 % участников исследования уже подвергались эрадикационной терапии.

Отсутствие различий в частоте выявления инфекции *H. pylori* у РЛРЖ по сравнению с лицами контрольной группы наблюдалось по результатам крупного эпидемиологического исследования с участием 10 796 корейских пациентов, опубликованным в 2011 г. (55,1 % у РЛРЖ против 54,4 % у лиц контрольной группы) [12], а также других исследований, проводившихся в Бразилии [10], Иране [13] и Италии [14]. В то же время в ряде публикаций приводятся данные о более высокой распространенности инфекции *H. pylori* у РЛРЖ по сравнению с другими пациентами [8, 15, 16].

В нашем исследовании установлено, что у РЛРЖ по сравнению с лицами контрольной группы чаще выявляется атрофия слизистой оболочки желудка любой локализации (46,3 % против 27,0 %), атрофия слизистой оболочки антрального отдела желудка (41,6 % против 27,0 %), а также изолированная атрофия тела желудка (4,6 % против 0 %), при этом различия в частоте выявления кишечной метаплазии отсутствовали. Сходные данные получены и другими исследователями. Так, в португальском исследовании хронический АГ у РЛРЖ был диагностирован в 70 % случаев по сравнению с 32 % в контрольной группе ( $p < 0,001$ ) [8]. Частота атрофии у РЛРЖ составила 39,3 % против 10,3 % у лиц контрольной группы (ОШ 5,02;  $p < 0,05$ ) в колумбийских исследованиях [17]. В иранской публикации F. Mansour-Ghanaei [13] выявлена ассоциация семейной истории РЖ с увеличением риска развития атрофии, но не кишечной метаплазии. В иранском исследовании не выявлено различий в распространении ИМ у РЛРЖ и у лиц контрольной группы ( $p = 0,74$  в антруме,  $p = 0,99$  в теле желудка,  $p = 0,46$  в кардии) [19].

В то же время в ряде работ не установлено связи наследственного анамнеза РЖ с развитием атрофии, но показана такая ассоциация для кишечной метаплазии. Повышение частоты развития кишечной метаплазии у лиц младше 50 лет с отягощенным семейным анамнезом РЖ ( $p = 0,018$ ) выявлено в недавнем исследовании корейских авторов [9]. Согласно данным метаанализа 11 исследований, включавших 1500 РЛРЖ первой степени родства, ОШ для выявления АГ и ИМ составили 2,2 (95 % ДИ 1,26–3,82;  $p = 0,005$ ) и 1,9 (95 % ДИ 1,36–2,88;  $p < 0,001$ ) соответственно [11]. При анализе эндоскопических данных 4023 корейских пациентов, прошедших скрининговые исследования, установлено, что семейный анамнез РЖ связан с повышенным риском развития только кишечной метаплазии (ОШ 1,48; 95 % ДИ = 1,12–1,96;  $p = 0,006$ ). Однако это исследование проводилось без гистологической оценки, являющейся золотым стандартом диагностики атрофического гастрита [12]. Похожие результаты получены бразильскими исследователями на основании эндоскопических и гистологических данных: семейная история РЖ не имеет связи с АГ, но ассоциирована с увеличением частоты ИМ в теле желудка ( $p = 0,04$ ) [10]. Корейские ученые установили, что у РЛРЖ определяется повышенный риск развития ИМ в антральном отделе желудка (для пациентов мужского пола ОШ 2,69;  $p = 0,037$ ), однако повышение риска развития атрофии отсутствует [18].

В нашем исследовании дисплазия слизистой оболочки желудка выявлялась с близкой частотой в основной (0,9 %, 1/108) и контрольной (2,0 %, 2/100) группах, что согласуется с данными некоторых других авторов [19] и, возможно, объясняется относительной редкостью данного признака и небольшим объемом выборки. Тем не менее, другими исследователями установлены различия в частоте выявления дисплазии в исследованиях сходного объема. Так, португальские ученые наблюдали дисплазию у 7 % из 103 РЛРЖ при отсутствии случаев дисплазии в группе контроля (101 человек) [8]. В иранском исследовании, включавшем 503 РЛРЖ и 592 лица контрольной группы, также выявлена ассоциация семейной истории РЖ с увеличением риска развития дисплазии (4 % против 0,4 % соответственно;  $p < 0,001$ ) [13].

В нашем исследовании наличие АГ и ИМ было достоверно ассоциировано с возрастом, что согласуется с многочисленными данными других публикаций [12, 13, 15, 18]. В корейском исследовании авторы также установили, что увеличение возраста на 5 лет повышает риск развития атрофического гастрита и ИМ примерно в 1,25 раза ( $p < 0,001$ ), а пряная пища увеличивает риск ИМ в антруме в 2,28 раза (95 % ДИ 1,36–3,84;  $p = 0,002$ ) [18].

По нашим данным, регулярное употребление крепких алкогольных напитков (водка, коньяк) влияет на риск развития атрофии (ОШ 5,5; 95 % ДИ 1,6–21,6;  $p = 0,009$ ) и кишечной метаплазии (ОШ 4,27; 95 % ДИ 1,87–10,61;  $p = 0,001$ ). Эти данные согласуются с результатами метаанализа 22 проспективных когортных исследований, показавших, что употребление крепких алкогольных напитков связано с более высоким риском РЖ независимо от страны, пола, наследственности, ИМТ, уровня образования или физической активности (ОШ 1,13; 95 % ДИ 1,06–1,21;  $p < 0,001$ ) [25]. Исследование в Китае также подтвердило связь развития предопухолевых изменений желудка с приемом алкоголя (500 мл пива или 50 мл вина не менее 2 раз в неделю) (ОШ 3,68; 95 % ДИ 2,34–5,79;  $p < 0,001$ ) [26].

По результатам нашего исследования, наличие АГ и ИМ не зависело от пола ( $p = 0,355$  и  $p = 0,338$ ), наличия на момент обследования *H. pylori* ( $p = 0,251$  и  $p = 0,522$ ), эрадикации в анамнезе ( $p = 0,472$  и  $p = 0,335$ ), курения ( $p = 0,533$  и  $p = 0,407$ ), симптомов диспепсии (боль в эпигастрии) ( $p = 0,546$  и  $p = 0,522$ ), употребления фруктов ( $p = 0,125$  и  $p = 0,513$ ), а также отягощенной наследственности по раку другой локализации ( $p = 0,415$  и  $p = 0,148$ ). Подобные данные получены в Китае: курение ( $p = 0,371$ ), диета с большим количеством соли ( $p = 0,214$ ), а также частое употребление фруктов и овощей ( $p = 0,221$ ) не влияли на риск развития предопухолевых изменений желудка, при этом авторы выявили связь с употреблением острой пищи (ОШ 5,93; 95 % ДИ 3,73–9,42;  $p < 0,001$ ) [26]. Проведенный португальскими авторами метаанализ 32 исследований не показал убедительной связи между курением и развитием кишечной метаплазии в слизистой желудка [27]. Другие исследования, наоборот, продемонстрировали связь курения с повышенным риском развития РЖ у мужчин, у которых ОШ составляет от 1,36 ОШ (95 % ДИ 0,50–3,71) до 1,88 (95 % ДИ 1,02–3,43) в зависимости от количества выкуриваемых сигарет в день. Риск развития РЖ резко возрос у курящих и инфицированных *H. pylori* по сравнению с теми, у кого не было обоих факторов риска (ОШ 11,41; 95 % ДИ 1,54–84,67) [28]. Метаанализ проспективных исследований показал, что совокупный риск развития РЖ у курящих мужчин составлял 1,62, а у курящих женщин – 1,20 по сравнению с лицами, которые никогда не курили. Кроме того, риск развития РЖ у лиц, прекративших курение, уменьшался по сравнению с курящими [3].

Наше исследование не выявило связи АГ и ИМ с употреблением соли ( $p = 0,102$  и  $p = 0,113$  соответственно). Считается, что соль в высоких концентрациях влияет на канцерогенез РЖ, хотя до настоящего времени доказательства этого недостаточно убедительны. Проведенные португальскими исследователями систематический обзор и метаанализ о потреблении соли и ее роли в развитии кишечной метаплазии не выявили статистически значимой связи между ИМ и экскрецией натрия с мочой. Также было показано, что степень информативности анкеты о потреблении соли весьма ограничена в силу больших погрешностей, связанных с субъективной оценкой [29].

При использовании нами для стадирования гастрита классификационной системы OLGA, предназначенной для оценки риска развития РЖ, установлено более частое наличие I–IV стадии гастрита у РЛРЖ по сравнению с лицами контрольной группы ( $p = 0,002$ ), а кроме того, у РЛРЖ

чаще (40,7 % против 26,0 % в контрольной группе) диагностировали I и II стадии. При использовании системы OLGIM не удалось выявить различий между группой лиц с отягощенной наследственностью и группой контроля. В Китае проведено сравнение японской классификации атрофии с классификационными системами OLGA и OLGIM. Исследование показало значительную корреляцию между ранним РЖ и наличием атрофии от умеренной до тяжелой степени (ОШ 1,95; 95 % ДИ 1,06–3,58;  $p = 0,031$ ) и стадией OLGA III–IV (ОШ 3,14; 95 % ДИ 1,71–5,81;  $p < 0,001$ ), но без значимой корреляции между ранним РЖ и OLGIM III–IV стадии ( $p = 0,781$ ). По мнению авторов, именно классификационная система OLGA является оптимальной для скрининга раннего РЖ [30]. Исследование по сопоставлению классификаций гастритов (Сиднейской, OLGA и OLGIM) проводилось также в Латвии. В этом исследовании стадирование по OLGIM обеспечивало самое высокое соглашение между наблюдателями, но значительная часть лиц с высоким риском рака не была бы идентифицирована, если бы применялась только классификация OLGIM [31]. По результатам тунисского исследования OLGA и OLGIM имели положительную и значимую корреляцию друг с другом (расхождение – 5 %) [32]. Классификации OLGA и OLGIM у РЛРЖ применялись лишь в единичных исследованиях. Например, по данным португальских ученых, при применении классификации OLGA в группу высокого риска (стадия III–IV) попали 19 % лиц с отягощенной наследственностью по РЖ по сравнению с 0 % лиц из контрольной группы ( $p < 0,001$ ) [9].

**Заключение.** Таким образом, результаты нашего исследования показывают следующее: 1) у РЛРЖ атрофия слизистой оболочки желудка в целом, антральный атрофический гастрит, а также изолированная атрофия в теле желудка наблюдаются достоверно чаще; 2) у РЛРЖ атрофический гастрит развивается достоверно раньше (средний возраст 48,0 года против 53,0 года в контрольной группе) по сравнению с лицами, не имеющими отягощенного по РЖ наследственного анамнеза; 3) отягощенный по РЖ наследственный анамнез является независимым фактором риска развития атрофического гастрита; 4) использование системы стадирования гастрита OLGA для идентификации лиц с повышенным риском развития РЖ в группе РЛРЖ является, вероятно, более оптимальным вариантом, чем использование системы OLGIM. Кроме того, полученные нами результаты еще раз подтверждают известную связь между возрастом и риском развития предопухолевых изменений слизистой оболочки желудка, а также данные о неблагоприятном влиянии употребления алкоголя и ожирения на риск развития РЖ.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

#### Список использованных источников

1. IARC, Globocan 2018 [Electronic resource] / World Health Organization. – Paris, 2018. – Mode of access : <https://www.uicc.org/news/new-global-cancer-data-globocan-2018>. – Date of access : 30.09.2019.
2. Gastric cancer and *Helicobacter pylori*: a combined analysis of 12 case control studies nested within prospective cohorts // Gut. – 2001. – Vol. 49, N 3. – P. 347–353. <https://doi.org/10.1136/gut.49.3.347>
3. Cover, T. L. Diet, microbial virulence, and *Helicobacter pylori*-induced gastric cancer / T. L. Cover, R. M. Peek // Gut Microbes. – 2013. – Vol. 4, N 6. – P. 482–493. <https://doi.org/10.4161/gmic.26262>
4. Choi, Y. J. Gastric cancer in family history / Y. J. Choi, N. Kim // Korean J. Intern. Med. – 2016. – Vol. 31, N 6. – P. 1042–1053. <https://doi.org/10.3904/kjim.2016.147>
5. Nagini, S. Carcinoma of the stomach: a review of epidemiology, pathogenesis, molecular genetics and chemoprevention / S. Nagini // World J. Gastroint. Oncol. – 2012. – Vol. 4, N 7. – P. 156–169. <https://doi.org/10.4251/wjgo.v4.i7.156>
6. Lansdorp-Vogelaar, I. Screening for gastric cancer in Western countries / I. Lansdorp-Vogelaar, E. J. Kuipers // Gut. – 2015. – Vol. 65, N 4. – P. 543–544. <https://doi.org/10.1136/gutjnl-2015-310356>
7. Management of precancerous conditions and lesions in the stomach (MAPS): guideline from the European Society of Gastrointestinal Endoscopy (ESGE), European Helicobacter Study Group (EHSO), European Society of Pathology (ESP), and the Sociedade Portuguesa de Endoscopia Digestiva (SPED) Endoscopy / M. Dinis-Ribeiro [et al.]. – 2012. – Vol. 44, N 01. – P. 74–94. <https://doi.org/10.1055/s-0031-1291491>
8. First-degree relatives of patients with early-onset gastric carcinoma show even at young ages a high prevalence of advanced OLGA/OLGIM stages and dysplasia / R. Marcos-Pinto [et al.] // Aliment. Pharmac. Ther. – 2012. – Vol. 35, N 12. – P. 1451–1459. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2036.2012.05111.x>
9. Intrafamilial aggregation of gastric cancer: a comprehensive approach including environmental factors, *Helicobacter pylori* virulence, and genetic susceptibility / C. M. Shin [et al.] // Eur. J. Gastr. Hepat. – 2011. – Vol. 23, N 5. – P. 411–417. <https://doi.org/10.1097/meg.0b013e328343b7f5>

10. Precancerous lesions and *Helicobacter pylori* in relatives of gastric cancer patients / C. R. A. Motta [et al.] // *Digestion*. – 2008. – Vol. 78, N 1. – P. 3–8. <https://doi.org/10.1159/000151297>
11. *Helicobacter pylori* infection and gastric histology in first-degree relatives of gastric cancer patients: a metaanalysis / T. Rokkas [et al.] // *Eur. J. Gastr. Hepat.* – 2010. – Vol. 22, N 9. – P. 1128–1133. <https://doi.org/10.1097/meg.0b013e3283398d37>
12. Prevalence and risk factors of atrophic gastritis and intestinal metaplasia: a nationwide multicenter prospective study in Korea / Y.-E. Joo [et al.] // *Gut Liver*. – 2013. – Vol. 7, N 3. – P. 303–310. <https://doi.org/10.5009/gnl.2013.7.3.303>
13. Gastric precancerous lesions in first degree relatives of patients with known gastric cancer: a cross-sectional prospective study in Guilan Province, north of Iran / F. Mansour-Ghanaei [et al.] // *Asian. Pac. J. Canc. Prev.* – 2012. – Vol. 13, N 5. – P. 1779–1782. <https://doi.org/10.7314/apjcp.2012.13.5.1779>
14. Classification of gastritis in first-degree relatives of patients with gastric cancer in a high cancer-risk area in Italy / C. Saieva [et al.] // *Anticancer Res.* – 2012. – Vol. 32, N 5. – P. 1711–1716.
15. *Helicobacter pylori* infection in 1st degree relatives of Chinese gastric cancer patients / W. K. Leung [et al.] // *Scand. J. Gastr.* – 2006. – Vol. 41, N 3. – P. 274–279. <https://doi.org/10.1080/00365520510024269>
16. Role of *Helicobacter pylori* infection among offspring or siblings of gastric cancer patients / Y. W. Chang [et al.] // *Int. J. Canc.* – 2002. – Vol. 101, N 5. – P. 469–474. <https://doi.org/10.1002/ijc.10637>
17. Gómez, Z. M. First-degree relatives of patients with gastric cancer have high frequencies of achlorhydria and premalignant gastric lesions / Z. M. Gómez, D. N. Garzón, R. W. Otero // *Rev. Col. Gastr.* – 2014. – Vol. 29, N 1. – P. 3–10.
18. Risk factors of atrophic gastritis and intestinal metaplasia in first-degree relatives of gastric cancer patients compared with age-sex matched controls / S. Oh [et al.] // *J. Canc. Prev.* – 2013. – Vol. 18, N 2. – P. 149–160. <https://doi.org/10.15430/jcp.2013.18.2.149>
19. Prevalence of *H. pylori* infection and precancerous gastric lesion in family relative of gastric cancer in South West of Iran / A. R. Masjedizadeh [et al.] // *J. Gastr. Hepat. Res.* – 2013. – Vol. 2, N 11. – P. 878–882.
20. Classification and grading of gastritis. The updated Sydney system / M. F. Dixon [et al.] // *Am. J. Surg. Pathol.* – 1996. – Vol. 20, N 10. – P. 1161–1181. <https://doi.org/10.1097/00000478-199610000-00001>
21. OLGA staging for gastritis: a tutorial / M. Rugge [et al.] // *Dig. Liver Dis.* – 2008. – Vol. 40, N 8. – P. 650–658. <https://doi.org/10.1016/j.dld.2008.02.030>
22. Особенности верхних отделов пищеварительного тракта при эндоскопии и гастробиопсии у мужчин с синдромом диспепсии в период призыва на срочную военную службу / А. Н. Януль [и др.] // *Мед. журн.* – 2015. – № 2. – С. 113–117.
23. Роль полиморфизма гена IL-1RN и IL-1 В в желудочном канцерогенезе у белорусов / А. В. Воропаева [и др.] // *Современные проблемы радиационной медицины: от теории к практике : материалы Междунар. науч.-практ. конф. (г. Гомель, 21–22 апр. 2016 г.) / под общ. ред. А. В. Рожко. – Гомель, 2016. – С. 92–94.*
24. Януль, А. Н. Особенности патологии верхнего отдела желудочно-кишечного тракта при диспепсии у военнослужащих срочной военной службы : автореф. дис. ... канд. мед. наук : 14.01.28 / А. Н. Януль ; Белорус. мед. акад. последиплом. образования. – Минск, 2018. – 24 с.
25. Association between alcohol consumption and the risk of gastric cancer: a meta-analysis of prospective cohort studies / Z. He [et al.] // *Oncotarget*. – 2017. – Vol. 8, N 48. – P. 84459–84472. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.20880>
26. Analysis of risk factors associated with precancerous lesion of gastric cancer in patients from eastern China: a comparative study / M. Wei [et al.] // *J. Can. Res. Ther.* – 2013. – Vol. 9, N 2. – P. 205–209. <https://doi.org/10.4103/0973-1482.113351>
27. Tobacco smoking and intestinal metaplasia: Systematic review and meta-analysis / S. Morais [et al.] // *Dig. Liver Dis.* – 2014. – Vol. 46, N 11. – P. 1031–1037. <https://doi.org/10.1016/j.dld.2014.08.034>
28. Population-based prospective study of the combined influence of cigarette smoking and *Helicobacter pylori* infection on gastric cancer incidence: the Hisayama study / K. Shikata [et al.] // *Am. J. Epidem.* – 2008. – Vol. 168, N 12. – P. 1409–1415. <https://doi.org/10.1093/aje/kwn276>
29. Salt intake and risk of gastric intestinal metaplasia: systematic review and meta-analysis / M. Dias-Neto [et al.] // *Nutrit. Canc.* – 2010. – Vol. 62, N 2. – P. 133–147. <https://doi.org/10.1080/01635580903305391>
30. Operative link on gastritis assessment stage is an appropriate predictor of early gastric cancer / Y. Zhou [et al.] // *World J. Gastr.* – 2016. – Vol. 22, N 13. – P. 3670–3678. <https://doi.org/10.3748/wjg.v22.i13.3670>
31. Gastritis staging: interobserver agreement by applying OLGA and OLGIM systems / S. Isajevs [et al.] // *Virchows Archiv.* – 2014. – Vol. 464, N 4. – P. 403–407. <https://doi.org/10.1007/s00428-014-1544-3>
32. Gastrites chroniques à *Helicobacter pylori*: évaluation des systèmes OLGA et OLGIM / S. B. Slama [et al.] // *Pan. Afr. Med. J.* – 2016. – Vol. 23. – P. 23–28. <https://doi.org/10.11604/pamj.2016.23.28.8839>

## References

1. IARC, *Globocan 2018*. World Health Organization. Paris, 2018. Available at: <https://www.uicc.org/news/new-global-cancer-data-globocan-2018> (accessed 30.09.2019).
2. Gastric cancer and *Helicobacter pylori*: a combined analysis of 12 case control studies nested within prospective cohorts. *Gut*, 2001, vol. 49, no. 3, pp. 347–353. <https://doi.org/10.1136/gut.49.3.347>
3. Cover T. L., Peek R. M. Diet, microbial virulence, and *Helicobacter pylori*-induced gastric cancer. *Gut Microbe*, 2013, vol. 4, no. 6, pp. 482–493. <https://doi.org/10.4161/gmic.26262>
4. Choi Y. J., Kim N. Gastric cancer in family history. *Korean Journal of Internal Medicine*, 2016, vol. 31, no. 6, pp. 1042–1053. <https://doi.org/10.3904/kjim.2016.147>

5. Nagini S. Carcinoma of the stomach: a review of epidemiology, pathogenesis, molecular genetics and chemoprevention. *World Journal of Gastrointestinal Oncology*, 2012, vol. 4, no. 7, pp. 156–169. <https://doi.org/10.4251/wjgo.v4.i7.156>
6. Lansdorp-Vogelaar I., Kuipers E. J. Screening for gastric cancer in Western countries. *Gut*, 2015, vol. 65, no. 4, pp. 543–544. <https://doi.org/10.1136/gutjnl-2015-310356>
7. Dinis-Ribeiro M., Areia M., de Vries A., Marcos-Pinto R., Monteiro-Soares M., O'Connor A. [et al.]. Management of precancerous conditions and lesions in the stomach (MAPS): guideline from the European Society of Gastrointestinal Endoscopy (ESGE), European Helicobacter Study Group (EHSG), European Society of Pathology (ESP), and the Sociedade Portuguesa de Endoscopia Digestiva (SPED). *Endoscopy*, 2012, vol. 44, no. 01, pp. 74–94. <https://doi.org/10.1055/s-0031-1291491>
8. Marcos-Pinto R., Carneiro F., Dinis-Ribeiro M., Wen X., Lopes C., Figueiredo C. [et al.]. First-degree relatives of patients with early-onset gastric carcinoma show even at young ages a high prevalence of advanced OLGA/OLGIM stages and dysplasia. *Alimentary Pharmacology and Therapeutics*, 2012, vol. 35, no. 12, pp. 1451–1459. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2036.2012.05111.x>
9. Shin C. M., Kim N., Lee H. S., Lee D. H., Kim J. S., Jung H. C., Song I. S. Intrafamilial aggregation of gastric cancer: a comprehensive approach including environmental factors, *Helicobacter pylori* virulence, and genetic susceptibility. *European Journal of Gastroenterology and Hepatology*, 2011, vol. 23, no. 5, pp. 411–417. <https://doi.org/10.1097/meg.0b013e328343b7f5>
10. Motta C. R. A., Cunha M. P. S. S., Queiroz D. M. M., Cruz F. W. S., Guerra E. J. C., Mota R. M. S., Braga L. L. B. C. Precancerous lesions and *Helicobacter pylori* in relatives of gastric cancer patients. *Digestion*, 2008, vol. 78, no. 1, pp. 3–8. <https://doi.org/10.1159/000151297>
11. Rokkas T., Sechopoulos P., Pistiolas D., Margantinis G., Koukoulis G. *Helicobacter pylori* infection and gastric histology in first-degree relatives of gastric cancer patients: a metaanalysis. *European Journal of Gastroenterology and Hepatology*, 2010, vol. 22, no. 9, pp. 1128–1133. <https://doi.org/10.1097/meg.0b013e3283398d37>
12. Joo Y.-E., Park H.-K., Myung D.-S., Baik G.-H., Shin J.-E., Seoll G.-S. [et al.]. Prevalence and risk factors of atrophic gastritis and intestinal metaplasia: a nationwide multicenter prospective study in Korea. *Gut and Liver*, 2013, vol. 7, no. 3, pp. 303–310. <https://doi.org/10.5009/gnl.2013.7.3.303>
13. Mansour-Ghanaei F., Joukar F., Baghaei S. M., Yousefi-Mashhoor M., Naghipour M. R., Sanaei O., Naghdipour M., Shafighnia S., Atrkar-Roushan Z. Gastric precancerous lesions in first degree relatives of patients with known gastric cancer: a cross-sectional prospective study in Guilan Province, north of Iran. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 2012, vol. 13, no. 5, pp. 1779–1782. <https://doi.org/10.7314/APJCP.2012.13.5.1779>
14. Saieva C., Rubio C. A., Nesi G., Zini E., Filomena A. Classification of gastritis in first-degree relatives of patients with gastric cancer in a high cancer-risk area in Italy. *Anticancer Research*, 2012, vol. 32, no. 5, pp. 1711–1716.
15. Leung W. K., Ng E. K., Lam C. C. H., Chan K.-F., Chan W. Y., Auyeung A. C. M., Wu J. C. Y., Ching J. Y. L., Lau J. Y. W., Sung J. J. Y. *Helicobacter pylori* infection in 1st degree relatives of Chinese gastric cancer patients. *Scandinavian Journal of Gastroenterology*, 2006, vol. 41, no. 3, pp. 274–279. <https://doi.org/10.1080/00365520510024269>
16. Chang Y.-W., Han Y.-S., Lee D.-K., Kim H.-J., Lim H.-S., Moon J.-S., Dong S.-H., Kim B.-H., Lee J.-I., Chang R. Role of *Helicobacter pylori* infection among offspring or siblings of gastric cancer patients. *International Journal of Cancer*, 2002, vol. 101, no. 5, pp. 469–474. <https://doi.org/10.1002/ijc.10637>
17. Gómez Z. M., Garzón D. N., Otero R. W. First-degree relatives of patients with gastric cancer have high frequencies of achlorhydria and premalignant gastric lesions. *Revista Colombiana de Gastroenterología*, 2014, vol. 29, no. 1, pp. 3–10.
18. Oh S., Kim N., Yoon H., Choi Y. J., Lee J. Y., Park K. J. [et al.]. Risk factors of atrophic gastritis and intestinal metaplasia in first-degree relatives of gastric cancer patients compared with age-sex matched controls. *Journal of Cancer Prevention*, 2013, vol. 18, no. 2, pp. 149–160. <https://doi.org/10.15430/jcp.2013.18.2.149>
19. Masjedizadeh A. R., Fathizadeh P., Shayesteh A. A., Alavinejad P., Hashemi J., Hajiani E. Prevalence of *H. pylori* infection and precancerous gastric lesion in family relative of gastric cancer in South West of Iran. *Journal of Gastroenterology and Hepatology Research*, 2013, vol. 2, no. 11, pp. 878–882.
20. Dixon M. F., Genta R. M., Yardley J. H., Correa P. Classification and grading of gastritis. The updated Sydney system. *American Journal of Surgical Pathology*, 1996, vol. 20, no. 10, pp. 1161–1181. <https://doi.org/10.1097/00000478-199610000-00001>
21. Rugge M., Correa P., Di Mario F., El-Omar E., Fiocca R., Geboes K. [et al.]. OLGA staging for gastritis: a tutorial. *Digestive and Liver Disease*, 2008, vol. 40, no. 8, pp. 650–658. <https://doi.org/10.1016/j.dld.2008.02.030>
22. Yanul' A. N., Saevich N. I., Stakhievich V. A., Grigut' A. T., Silivonchik N. N. Features of the upper gastrointestinal tract by endoscopy and gastrobiopsy men with the syndrome of dyspepsia during the call-up formilitary service. *Meditsinskii zhurnal* [Medical journal], 2015, no. 2, pp. 113–117 (in Russian).
23. Voropaeva A. V., Karpenko O. V., Bredikhina E. V., Silin A. E., Martinkov V. N., Krivun T. P., Zhandarov M. Yu. The role of gene polymorphism of IL-1RN and IL-1 1 in gastric carcinogenesis in Belarusians. *Sovremennyye problemy radiatsionnoi meditsiny: ot teorii k praktike: materialy Mezhdunarodnoi nauchno-prakticheskoi konferentsii (Gomel', 21–22 aprelya 2016 goda)* [Modern problems of radiation medicine: from theory to practice: materials of the International scientific-practical conference (Gomel, April 21–22, 2016)]. Gomel, 2016, pp. 92–94 (in Russian).
24. Yanul' A. N. *Features of the pathology of the upper gastrointestinal tract during dyspepsia in military personnel*. Abstract of Ph. D. diss. Minsk, 2018. 24 p. (in Russian).
25. He Z., Zhao T.-T., Xu H.-M., Wang Z.-N., Xu Y.-Y., Song Y.-X. [et al.] Association between alcohol consumption and the risk of gastric cancer: a meta-analysis of prospective cohort studies. *Oncotarget*, 2017, vol. 8, no. 48, pp. 84459–84472. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.20880>

26. Wei M., Wu Y., Fan Y., Jiang Y., Wang Y., Liu H. Analysis of risk factors associated with precancerous lesion of gastric cancer in patients from eastern China: a comparative study. *Journal of Cancer Research and Therapeutics*, 2013, vol. 9, no. 2, pp. 205–209. <https://doi.org/10.4103/0973-1482.113351>

27. Morais S., Rodrigues S., Amorim L., Peleteiro B., Lunet N. Tobacco smoking and intestinal metaplasia: systematic review and meta-analysis. *Digestive and Liver Disease*, 2014, vol. 46, no. 11, pp. 1031–1037. <https://doi.org/10.1016/j.dld.2014.08.034>

28. Shikata K., Doi Y., Yonemoto K., Arima H., Ninomiya T., Kubo M., Tanizaki Y., Matsumoto T., Iida M., Kiyohara Y. Population-based prospective study of the combined influence of cigarette smoking and *Helicobacter pylori* infection on gastric cancer incidence: the Hisayama Study. *American Journal of Epidemiology*, 2008, vol. 168, no. 12, pp. 1409–1415. <https://doi.org/10.1093/aje/kwn276>

29. Dias-Neto M., PINTALHÃO M., FERREIRA M., Lunet N. Salt intake and risk of gastric intestinal metaplasia: systematic review and meta-analysis. *Nutrition and Cancer*, vol. 62, no. 2, pp. 133–147. <https://doi.org/10.1080/01635580903305391>

30. Zhou Y., Li H. Y., Zhang J. J., Chen X.-Y., Ge Z.-Z., Li X.-B. Operative link on gastritis assessment stage is an appropriate predictor of early gastric cancer. *World Journal of Gastroenterology*, 2016, vol. 22, no. 13, pp. 3670–3678. <https://doi.org/10.3748/wjg.v22.i13.3670>

31. Isajevs S., Liepniece-Karele I., Janciauskas D., Moisejevs G., Putnins V., Funka K., Kikuste I., Vanags A., Tolmanis I., Leja M. Gastritis staging: interobserver agreement by applying OLGA and OLGIM systems. *Virchows Archiv*, 2014, vol. 464, no. 4, pp. 403–407. <https://doi.org/10.1007/s00428-014-1544-3>

32. Slama S. B., Ghachem D. B., Dhaoui A., Jomni M. T., Dougui M. H., Bellil K. Gastrites chroniques à *Helicobacter pylori*: évaluation des systèmes OLGA et OLGIM. *Pan African Medical Journal*, 2016, no. 23, pp. 23–28. <https://doi.org/10.11604/pamj.2016.23.28.8839>

### Информация об авторах

*Карпенко Ольга Васильевна* – ассистент. Белорусский государственный медицинский университет (пр. Дзержинского, 83, 220116, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: [Olga-doc@tut.by](mailto:Olga-doc@tut.by)

*Горгун Юлия Викторовна* – д-р мед. наук, профессор. Оберхавель Клиникен (г. Ораниенбург, Германия). E-mail: [julia.gorgun@mail.ru](mailto:julia.gorgun@mail.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](mailto:mitkovskaya1@mail.ru)

*Красько Ольга Владимировна* – канд. техн. наук, доцент, вед. науч. сотрудник. Объединенный институт проблем информатики НАН Беларуси (ул. Сурганова, 6, 220012, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: [krasko@newman.bas-net.by](mailto:krasko@newman.bas-net.by)

### Information about the authors

*Volha V. Karpenka* – Assistant. Belarusian State Medical University (83, Dzerzhynski Ave., 220116, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: [Olga-doc@tut.by](mailto:Olga-doc@tut.by)

*Julia V. Gorgun* – D. Sc. (Med.), Professor, Oberhavel Kliniken GMBH (Oranienburg, Germany). E-mail: [julia.gorgun@mail.ru](mailto:julia.gorgun@mail.ru)

*Natalia P. Mitkovskaya* – D. Sc. (Med.), Professor, Head of the Department. Belarusian State Medical University (83, Dzerzhynski Ave., 220116, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: [mitkovskaya1@mail.ru](mailto:mitkovskaya1@mail.ru)

*Volha V. Krasko* – Ph. D. (Eng.), Assistant Professor, Leading researcher. United Institute of Informatics Problems of the National Academy of Sciences of Belarus (6, Surganov Str., 220012, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: [krasko@newman.bas-net.by](mailto:krasko@newman.bas-net.by)

ISSN 1814-6023 (Print)

ISSN 2524-2350 (Online)

УДК 616.728.2-007.274.089

<https://doi.org/10.29235/1814-6023-2019-16-4-404-409>

Поступила в редакцию 02.07.2019

Received 02.07.2019

**А. Н. Волошенюк<sup>1</sup>, Н. С. Сердюченко<sup>2</sup>, А. Р. Чайковский<sup>3</sup>,  
Н. В. Скуратович<sup>3</sup>, Г. М. Евсеев<sup>4</sup>**

<sup>1</sup>Белорусская медицинская академия последипломного образования, Минск, Республика Беларусь

<sup>2</sup>Президиум НАН Беларуси, Минск, Республика Беларусь

<sup>3</sup>Городская клиническая больница скорой медицинской помощи, Минск, Республика Беларусь

<sup>4</sup>Белорусский государственный медицинский университет, Минск, Республика Беларусь

## ХИРУРГИЧЕСКОЕ ЛЕЧЕНИЕ АНКИЛОЗА ТАЗОБЕДРЕННОГО СУСТАВА

**Аннотация.** Изучены результаты эндопротезирования 33 пациентов с анкилозами тазобедренных суставов в сроки от 2 до 10 лет. Предложена тактическая схема хирургического лечения таких пациентов.

**Ключевые слова:** анкилоз тазобедренного сустава, порочная установка нижней конечности, тотальное эндопротезирование тазобедренного сустава

**Для цитирования:** Хирургическое лечение анкилоза тазобедренного сустава / А. Н. Волошенюк [и др.] // Вест. Нац. акад. наук Беларуси. Сер. мед. наук. – 2019. – Т. 16, № 4. – С. 404–409. <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2019-16-4-404-409>

**A. N. Voloshenyuk<sup>1</sup>, N. S. Serdyuchenko<sup>2</sup>, A. R. Tchaikovsky<sup>3</sup>, N. V. Skuratovich<sup>3</sup>, G. M. Evseev<sup>4</sup>**

<sup>1</sup>Belarusian Medical Academy of Postgraduate Education, Minsk, Republic of Belarus

<sup>2</sup>Presidium of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus

<sup>3</sup>City Clinical Emergency Hospital, Minsk, Republic of Belarus

<sup>4</sup>Belarusian State Medical University, Minsk, Republic of Belarus

## SURGICAL TREATMENT OF HIP ANKYLOSIS

**Abstract.** The article presents the results of treatment of 33 patients with hip joint ankylosis. The authors had proposed the tactical scheme of surgical treatment of patients with hip ankylosis and the results of total hip replacement within 5–10 years.

**Keywords:** hip ankylosis, faulty installation of the lower limb, hip joint endoprosthesis

For citation: Voloshenyuk A. N., Serdyuchenko N. S., Tchaikovsky A. R., Skuratovich N. V., Evseev G. M. Surgical treatment of hip ankylosis. *Vesti Natsyonal'noi akademii nauk Belarusi. Seriya meditsinskikh nauk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2019, vol. 16, no. 4, pp. 404–409 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2019-16-4-404-409>

**Введение.** Хирургическое лечение анкилозов тазобедренного сустава является не только сложным оперативным вмешательством, но и, по мнению ряда авторов, всегда эксклюзивным [1–3].

При анкилозированном тазобедренном суставе нарушаются ходьба, сидение, самообслуживание и выполнение трудовой деятельности. Длительность анкилоза более 10 лет приводит к появлению признаков декомпенсации в поясничном отделе позвоночника, в коленных и противоположном тазобедренном суставах [4–6].

С точки зрения ортопеда целесообразно различать костные анкилозы, при которых полная неподвижность сустава объясняется костным сращением сочленяющихся костных суставных концов, и анкилозы фиброзные, при которых суставные концы спаяны между собой фиброзными рубцовыми массами, крепко удерживающими суставы в вынужденном положении. Как правило, при костном анкилозе пациент предъявляет жалобы на боли в позвоночнике и смежных суставах, при фиброзных болях локализуются в пораженном суставе и усиливаются при физической нагрузке. Различают анкилозы в функционально выгодном и невыгодном положении. Для тазобедренного сустава функционально выгодным положением является отведение до 0° (допустимо до 8°), сгибание до 20° при стоячей профессии и до 30° при сидячей профессии и ротация до 0° [7].

В клинической практике ортопеды сталкиваются с ситуацией, когда анкилоз в порочном положении в одном суставе сочетается с дегенеративными изменениями в противоположном суставе (требуется хирургическое лечение последнего), а двустороннее поражение тазобедренных суставов приводит к формированию анкилозов, особенно у лиц молодого возраста [8–11].

Обнадеживающие результаты в лечении тяжелых форм поражения тазобедренных суставов методом эндопротезирования (конверсионная артропластика) позволили снизить долю альтернативных операций с 12 до 2 % и послужили причиной обращения пациентов, ранее перенесших органосохраняющие или артрорезирующие операции, за хирургической помощью.

Цель исследования – подбор оптимального хирургического лечения лиц с анкилозом тазобедренных суставов.

**Материалы и методы исследования.** Под нашим наблюдением находились 33 пациента (26 женщин, 7 мужчин в возрасте от 31 до 64 лет) с анкилозами тазобедренных суставов, которым на базе Республиканского клинического медицинского центра при Управлении делами Президента Республики Беларусь и Городской клинической больницы скорой медицинской помощи Минска в период с 2007 по 2016 г. было выполнено 43 оперативных вмешательства. Пациенты были разделены на три группы: 1-я группа включала 8 человек, у которых имелся анкилоз тазобедренного сустава в порочном положении (формирование анкилоза происходило после ранее выполнявшихся операций артрорезирования сустава в сроки более 10 лет), а другой сустав был дегенеративно изменен (коксартроз III стадии); 2-ю группу составили 20 пациентов с фиброзными анкилозами преимущественно в порочном положении (формирование сгибательно-приводящей контрактуры и анкилоз как исход патологического процесса); в 3-ю группу вошли 5 человек, у которых отмечался костный анкилоз в порочном положении как исход патологического процесса.

Результаты обследования и лечения оценивали по шкале Харрис, проводили общеклинические, рентгенологические, лабораторные исследования.

**Результаты и их обсуждение.** Первую группу составили пациенты, у которых при двустороннем процессе на одной стороне после анкилозирующей операции сформировался костный анкилоз в порочном положении (сроки от 10 лет и более), а в контрлатеральном суставе развился коксартроз III степени, требующий выполнения тотального эндопротезирования. При оценке состояния нижних конечностей на анкилозированной стороне из-за установки конечности в порочном положении и укорочения последней отмечались выраженные нарушения статической, кинематической и динамической функций. При выполнении тотального эндопротезирования контрлатерального сустава происходит быстрое асептическое расшатывание (нестабильность) элементов эндопротеза (чаще чашки) вследствие нарушения биомеханики нижних конечностей. Поэтому первым этапом проводилась коррекция в анкилозированном суставе – коррегирующая остеотомия бедра с установкой конечности в функционально выгодном положении. Обычно через 8–12 мес. после наступления консолидации в месте остеотомии и восстановления опороспособности анкилозированного сустава выполняли тотальное эндопротезирование контрлатерального сустава (пример 1).

*Пример 1.* Пациентка 3., 50 лет. После перенесенного пупочного сепсиса произошло разрушение правого тазобедренного сустава (гнойный коксит). В детском возрасте выполнен артрорез. Диагноз при первичном осмотре: анкилоз правого тазобедренного сустава в порочном положении (сгибательно-приводящая установка (разгибание/сгибание  $0^{\circ}/30^{\circ}/30^{\circ}$ , отведение/приведение  $0^{\circ}/25^{\circ}/25^{\circ}$ ). Левосторонний коксартроз III стадии (рис. 1, а). 27.03.2013 выполнена коррегирующая остеотомия правого бедра с установкой конечности в положение при сгибании  $20^{\circ}$ , при отведении  $5^{\circ}$ . Через 8 мес. наступила консолидация в области остеотомии и восстановилась опороспособность правой нижней конечности. 25.06.2014 выполнено тотальное эндопротезирование левого тазобедренного сустава эндопротезом Versafitcup DoubleMobility (DM). Функциональный результат по Harris до операции – 42 балла. Осмотр, проведенный через 2,5 года после эндопротезирования, показал, что пациентка ходит без дополнительных средств опоры, трость использует при ходьбе на расстояние более 1 км. Болей в оперированном суставе нет. Объем движений полный. Результат по Harris – 86 баллов. Рентгенологически признаков нестабильности эндопротеза нет (рис. 1, б).

При осмотре через 5 лет у 6 явившихся на осмотр пациентов отмечалось улучшение походки и увеличение статической нагрузки. Движения в суставах (разгибание/сгибание) после эндопротезирования в среднем активное –  $5^{\circ}/0^{\circ}/75^{\circ}$  (пассивное –  $5^{\circ}/0^{\circ}/105^{\circ}$ ). Результат по Harris отмечен как хороший ( $85 \pm 5$  баллов) у всех пациентов.

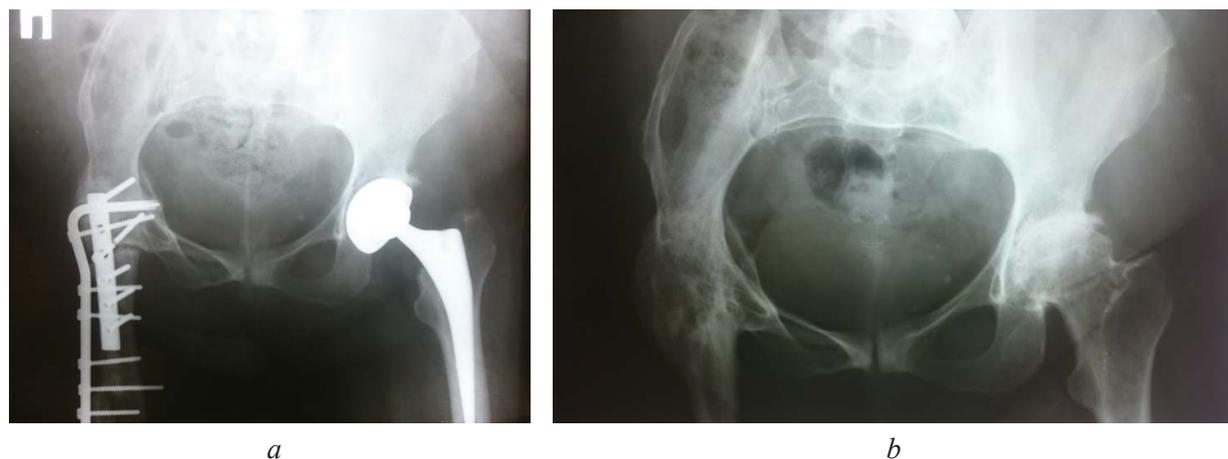


Рис. 1. Рентгенограммы пациентки З.: *a* – до операции; *b* – через 2,5 года после операции

Fig. 1. Radiographs of patient Z.: *a* – before surgery; *b* – 2.5 years after surgery

Вторую группу составили пациенты с фиброзными анкилозами, сформированными на фоне коксартрозов различной этиологии в течение длительного срока (7–10 лет). Несмотря на то что движения в анкилозированном суставе в течение последнего года отсутствовали, мышцы, окружающие тазобедренный сустав и принимающие участие в его движении, были достаточно развиты и функциональны. У 15 из 20 обследованных нижняя конечность находилась в функционально невыгодном положении (вследствие формирования сгибательно-приводящей контрактуры). У 5 пациентов с двусторонним поражением сформировалась так называемая спутанная походка. Функциональный результат по Harris не превышал  $40 \pm 5$  баллов. Оперативные вмешательства выполняли из задне-наружного или передне-наружного доступа. Разделение бедренного и вертлужного компонентов осуществляли путем рассечения фиброзных спаек, выделения проксимального отдела бедренной кости и остеотомии на заранее спланированном уровне. При невозможности вывихивания головки бедра в рану выполняли клиновидную остеотомию шейки, а головку удаляли по частям посредством фрагментации последней. Предпочтение отдавали бесцементному способу фиксации вертлужного компонента, так как при этом удавалось достичь стабильной фиксации путем его вкручивания или заклинивания по периферии вертлужной впадины. Причем в последние годы использовали, как правило, чашку DM, так как она обладает рядом преимуществ (максимальная дистанция соскальзывания по сравнению с классическим эндопротезом, значительно большая стабильность, учитывая снижение сил мышц при анкилозируемом суставе) (пример 2).

*Пример 2.* Пациентка К., 51 год, поступила 10.11.2014 с диагнозом левосторонний коксартроз III стадии (фиброзный анкилоз) (рис. 2, *a*). Функциональный результат по Harris – 32 балла. 12.11.2014 осуществлено эндопротезирование левого тазобедренного сустава эндопротезом DM (рис. 2, *b*). При оперативном вмешательстве ввиду возникших сложностей (вывихивания в рану головки бедренной кости) выполнены фрагментация головки и удаление ее по частям. После формирования фрезами вертлужной впадины удалены оссификаты по периметру. Осмотр, проведенный через 2 года, показал, что пациентка ходит без дополнительных средств опоры, а укорочение левой нижней конечности компенсирует ношением ортопедической обуви. Объем движений в суставе достаточный. Продолжает работать в школе учителем старших классов.

У 1 пациента в раннем послеоперационном периоде наступил вывих головки эндопротеза из-за обширной мобилизации тканей вследствие падения, что вызвало поверхностное нагноение операционной раны, не требующее удаления эндопротеза. Закрытое вправление вывиха с иммобилизацией в течение 3 недель позволило добиться хорошего результата.

При осмотре в сроки от 5 до 7 лет у явившихся на осмотр 12 пациентов отмечалось улучшение походки и опороспособности нижней конечности. Функциональный результат по Harris у 5 пациентов – более 90 баллов, у 6 –  $80 \pm 5$  и только у 1 – ниже 70. Неудовлетворительный результат

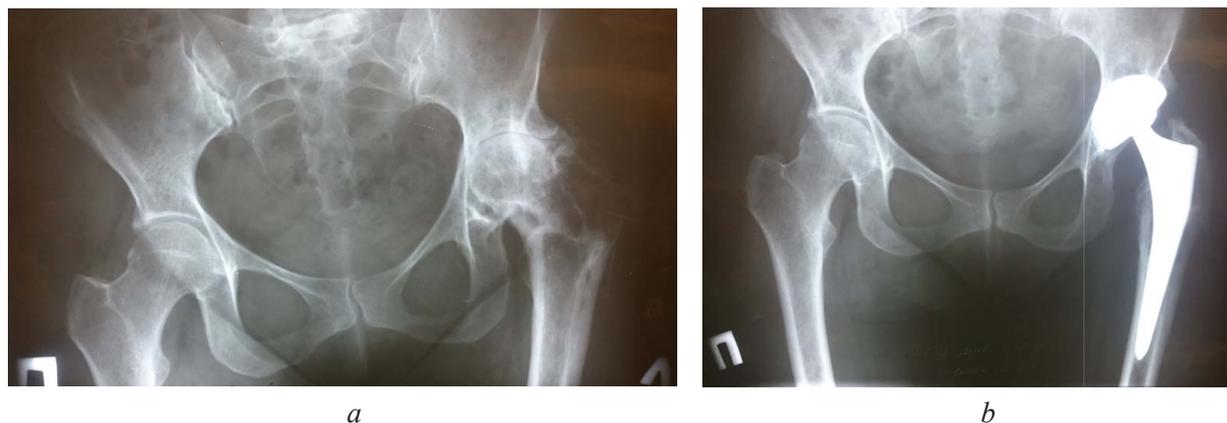


Рис. 2. Рентгенограммы пациентки К.: *a* – до операции; *b* – через 2 года после операции

Fig. 2. Radiographs of patient K.: *a* – before surgery; *b* – 2 years after surgery

у 1 пациента: асептическая нестабильность чашки эндопротеза вследствие выявленной неполноценности кости в виде выраженного остеопороза.

Наиболее сложную группу составили пациенты с истинным костным анкилозом. Несмотря на медленно формирующийся анкилоз в течение длительного срока (до 10 лет), отмечалось значительное снижение активности мышц, принимающих участие в движении тазобедренного сустава. Вследствие этого получить положительный результат после оперативного вмешательства очень сложно без «титанических» усилий со стороны пациента, поэтому данное оперативное вмешательство не показано тем, кто не настроен на положительный результат.

При костном анкилозе разделение осуществляли путем предварительной клиновидной остеотомии на уровне шейки бедренной кости, выделения бедра и окончательной остеотомии. Рассечение экстраартикулярных костных перемычек осуществляли в соответствии с зонами прикрепления мышц к проксимальному отделу бедренной кости с целью их сохранения. Удаление головки бедренной кости не выполняли, а подготовку костного ложа под ацетобулярный компонент эндопротеза осуществляли путем фрезерования фиксированной головки. Формирование вертлужной впадины в проксимальной культе шейки бедра позволяет сохранить костный массив, включающий часть шейки, головку бедра и зону их костного сращения с костями таза, что исключает возможность протрузии тазового компонента эндопротеза в полость малого таза, а также дает возможность восстановить анатомическую длину нижней конечности, а следовательно, устранить вторичные биомеханические нарушения, не опасаясь тракционного повреждения нервов. В послеоперационном периоде для профилактики вывихов в тазобедренном суставе на протяжении 1,5–2 мес. использовали дополнительную внешнюю фиксацию ортезом, вследствие чего восстановление опороспособности нижней конечности удлинялось до 4–6 мес. (пример 3).

*Пример 3.* Пациент П. поступил 02.04.2006 с диагнозом костный анкилоз левого тазобедренного сустава травматической этиологии (рис. 3, *a*). Функциональный результат по Harris – 38 баллов. 04.04.2006 проведено тотальное эндопротезирование левого тазобедренного сустава эндопротезом Zweymuller (SL-Plus/BICON-PLUS). По ходу операции после выполнения клиновидной остеотомии на уровне шейки бедра на месте оставшейся культы головки выполнены ее фрезерование с формированием вертлужной впадины и установка вкручивающейся чашки BICON-PLUS. Осмотр через 10 лет показал, что пациент ходит без дополнительных средств опоры (до 5 км в день). Оценка по Harris – 82 балла. На рентгенограммах признаков нестабильности элементов эндопротеза нет (рис. 3, *b*).

У всех пациентов данной группы получены хорошие и удовлетворительные результаты по Harris –  $80 \pm 5$  баллов.

Сложности имплантации бедренного компонента были обусловлены следующими причинами: извитым каналом бедренной кости, нарушением его оси или наличием оссифицирующих

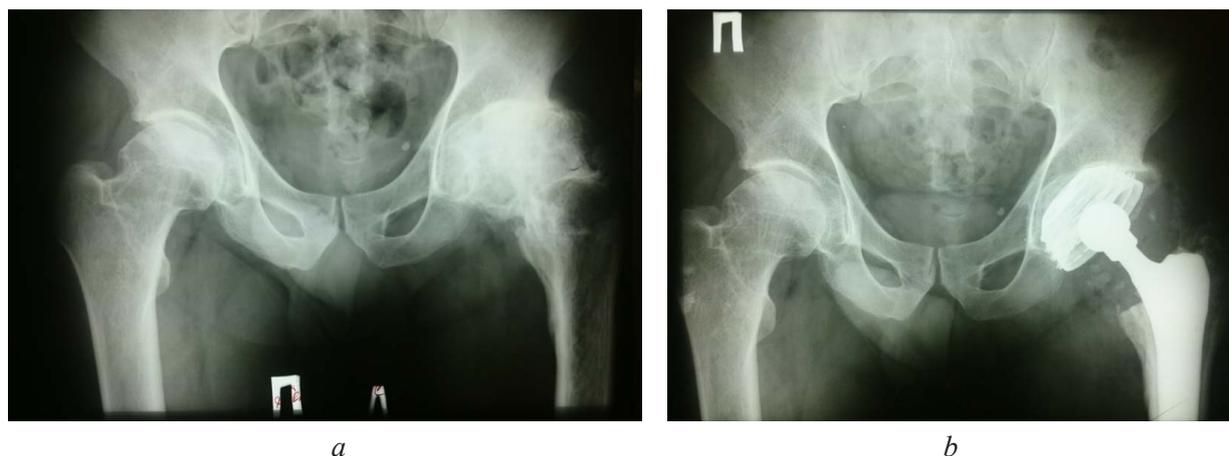


Рис. 3. Рентгенограммы пациентки П.: *a* – до операции; *b* – через 10 лет после операции

Fig. 3. Radiographs of patient P.: *a* – before surgery; *b* – 10 years after surgery

перемычек и инородных тел в канале. В этих случаях особое значение придавали операционному планированию, которое включало решение таких вопросов, как необходимость удаления инородных тел, выбор типа и размера бедренного компонента, а также подбор вариантов возможных остеотомий и фиксаций.

### Выводы

1. Тяжесть анатомо-функциональных состояний у пациентов с анкилозами тазобедренных суставов обусловлено, как правило, порочным положением нижней конечности и ее укорочением, а также выраженными нарушениями ее статики, кинематики и динамической функции.

2. Оперативное лечение при анкилозе предполагает тщательное планирование с учетом состояния контралатерального тазобедренного сустава, позвоночника и коленных суставов пациента.

3. В послеоперационном периоде рекомендуется разработать четкую индивидуальную систему медикаментозной, физико-функциональной терапии и реабилитации.

4. Эндопротезирование при анкилозах является эксклюзивным оперативным вмешательством и может быть выполнено только высококвалифицированным ортопедом с большим опытом работы в эндопротезировании.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

### Список использованных источников

1. Бут-Гусаим, А. Б. Оптимизация методов реабилитации больных, перенесших операцию тотального эндопротезирования тазобедренного сустава : автореф. дис. ... д-ра мед. наук : 14.00.22 / А. Б. Бут-Гусаим ; Рос. гос. мед. ун-т. – М., 2008. – 40 с.
2. Волошенко, А. Н. Эндопротезирование тазобедренного сустава в сложных клинических ситуациях / А. Н. Волошенко // Докл. Нац. акад. наук Беларуси. – 2005. – Т. 49, № 2. – С. 83–85.
3. Савинцев, А. М. Эндопротезирование тазобедренного сустава при анкилозах после гнойных заболеваний: аргументы за / А. М. Савинцев, С. А. Линник, А. В. Рак // Эндопротезирование в России : сб. науч. ст. / под общ. ред. И. Ф. Ахтямова, Р. М. Тихилова. – Казань ; СПб., 2008. – Вып. 4. – С. 278–288.
4. Остеомиелит таза, остеоартрит тазобедренного сустава и их ортопедические последствия : хирургическое лечение: книга-атлас / А. В. Рак [и др.] ; под ред. С. А. Линника. – СПб. : Изд-во Липатова, 2007. – 502 с.
5. Рациональное эндопротезирование тазобедренного сустава / Ал. А. Надеев [и др.]. – М. : БИНОМ. Лаб. знаний, 2004. – 239 с.
6. Малютин, А. П. Классификация дефектов вертлужной впадины и выбор способа установки вертлужного компонента эндопротеза тазобедренного сустава после реконструктивных оперативных вмешательств / А. П. Малютин, И. А. Норкин // Саратов. науч.-мед. журн. – 2006. – Т. 2, № 3. – С. 27–29.
7. Paprosky, W. G. Structural acetabular allograft in revision total hip arthroplasty (review) / W. G. Paprosky, E. L. Martin // Am. J. Orthop. – 2002. – Vol. 31, N 8. – P. 481–484.
8. Ревизионная артропластика при асептической нестабильности вертлужного компонента тотального эндопротеза тазобедренного сустава с использованием костной пластики и имплантатов бесцементной фиксации / А. В. Цыбин [и др.] // Травматология и ортопедия России. – 2006. – № 2. – С. 295–296.

9. Ахтямов, И. Ф. Ошибки и осложнения эндопротезирования тазобедренного сустава: руководство для врачей / И. Ф. Ахтямов, И. И. Кузьмин. – Казань : Центр оператив. печати, 2006. – 324 с.
10. Аллопластика тазобедренного сустава эндопротезами двойной мобильности в нестандартных ситуациях / А. Н. Волошенко [и др.] // Вест. Нац. акад. наук Беларусі. Сер. мед. навук. – 2016. – № 1. – С. 110–116.
11. Эндопротезирование тазобедренного сустава протезами нового поколения / И. С. Абельская [и др.] // Медицина. – 2013. – № 4. – С. 11–14.

## References

1. But-Gusaim A. B. *Optimization of rehabilitation methods for patients undergoing total hip replacement surgery*: Abstract of Ph. D. diss. Moscow, 2008. 40 p. (in Russian).
2. Voloshenyuk A. N. Endoprosthetics of the hip joint in difficult clinical situations. *Doklady Natsional'noi akademii nauk Belarusi = Doklady of the National Academy of Sciences of Belarus*, 2005, vol. 49, no. 2, pp. 83–85 (in Russian).
3. Savintsev A. M., Linnik S. A., Rak A. V. Endoprosthetics of the hip joint for ankylosis after purulent diseases: arguments for. *Endoprotezirovaniye v Rossii: sbornik nauchnykh statei* [Endoprosthetics in Russia: a collection of scientific articles]. Kazan, St. Petersburg, 2008, iss. 4, pp. 278–288 (in Russian).
4. Rak A. V., Nikitin G. D., Linnik S. A., Savintsev A. M., Romashov P. P., Khaimin V. V., Kravtsov V. I., Nikolaev V. F. *Pelvic osteomyelitis, osteoarthritis of the hip joint and their orthopedic effects: surgical treatment: atlas book*. St. Petersburg, Lipatov Publ., 2007. 502 p. (in Russian).
5. Nadeev A. I., Nadeev A., Ivannikov S., Shesternya N. *Rational hip arthroplasty*. Moscow, BINOM. Laboratoriya znaniy Publ., 2004. 239 p. (in Russian).
6. Malyutin A. P., Norkin I. A. Classification of defects in the acetabulum and the choice of how to install the acetabular component of the hip joint after reconstructive surgery. *Saratovskii nauchno-meditsinskii zhurnal* [Saratov journal of medical scientific research], 2006, vol. 2, no. 3, pp. 27–29 (in Russian).
7. Paprosky W. G., Martin E. L. Structural acetabular allograft in revision total hip arthroplasty (review). *American Journal of Orthopedics*, 2002, vol. 31, no. 8, pp. 481–484.
8. Tsybin A. V., Tikhilov P. M., Mashkov V. M., Sivkov B. C., Goncharov M. Yu., Sementkovskii A. V. Revision arthroplasty with aseptic instability of the acetabular component of the total hip joint prosthesis using bone grafting and cementless fixation implants. *Travmatologiya i ortopediya Rossii* [Traumatology and orthopedics of Russia], 2006, no. 2, pp. 295–296 (in Russian).
9. Akhtyamov I. F., Kuz'min I. I. *Errors and complications of hip replacement*. Kazan, Center for operational printing, 2006. 324 p. (in Russian).
10. Voloshenyuk A. N., Serdyuchenko N. S., Komarovskii M. V., Vorobei P. V. Alloplasty of the hip joint with dual mobility endoprostheses in unusual situations. *Vesti Natsyonal'nai akademii navuk Belarusi. Seriya meditsinskikh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2016, no. 1, pp. 110–116 (in Russian).
11. Abel'skaya I. S., Voloshenyuk A. N., Tikhon D. S., Petkevich E. A. Endoprosthetics of the hip joint with new-generation prostheses. *Meditsina* [Medicine], 2013, no. 4, pp. 11–14 (in Russian).

## Информация об авторах

*Волошенко Александр Николаевич* – канд. мед. наук, доцент, врач травматолог-ортопед. Белорусская медицинская академия последипломного образования (ул. П. Бровки, 3, 220013, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: na\_vol@icloud.com

*Сердюченко Николай Сергеевич* – член-корреспондент, д-р мед. наук, профессор, академик-секретарь. Президиум НАН Беларусі (пр. Независимости, 66, 220072, г. Минск, Республика Беларусь).

*Чайковский Александр Романович* – врач травматолог-ортопед. Городская клиническая больница скорой медицинской помощи (ул. Кижеватова, 58, 220024, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: alex\_r@icloud.com

*Скуратович Николай Валентинович* – врач травматолог-ортопед. Городская клиническая больница скорой медицинской помощи (ул. Кижеватова, 58, 220024, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: s\_nicv@icloud.com

*Евсеев Глеб Михайлович* – студент. Белорусский государственный медицинский университет (пр. Дзержинского, 83, 220116, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: glebevs@icloud.com

## Information about the authors

*Alexander N. Voloshenyuk* – Ph. D. (Med.), Assistant Professor, Orthopedic-trauma surgeon. Belarusian Medical Academy of Postgraduate Education (3, P. Brovka Str., 220013, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: na\_vol@icloud.com

*Nikolai S. Serdyuchenko* – Corresponding Member, D. Sc. (Med.), Professor, Academician-secretary. Presidium of the National Academy of Sciences of Belarus (66, Nezavisimosti Ave., 220072, Minsk, Republic of Belarus).

*Alexander R. Tchaikovsky* – Orthopedic-trauma surgeon. City Clinical Emergency Hospital (58, Kizhevatov Str., 220024, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: alex\_r@icloud.com

*Nicolai V. Skuratovich* – Orthopedic-trauma surgeon. City Clinical Emergency Hospital (58, Kizhevatov Str., 220024, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: s\_nicv@icloud.com

*Gleb M. Evseev* – Student. Belarusian State Medical University (83, Dzerzhinski Ave., 220116, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: glebevs@icloud.com

ISSN 1814-6023 (Print)

ISSN 2524-2350 (Online)

УДК 541.64:572.114:616-001.17+616-085+616-092.9+615.454.1

<https://doi.org/10.29235/1814-6023-2019-16-4-410-423>

Паступіў у рэдакцыю 11.03.2019

Received 11.03.2019

**А. А. Бакунович<sup>1</sup>, А. А. Астроўскі<sup>1</sup>, А. Г. Шляхтун<sup>1</sup>, В. Л. Мароз<sup>1</sup>,  
А. Б. Астроўская<sup>2</sup>, У. Д. Меламед<sup>2</sup>, В. У. Буко<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>*Інстытут біяхіміі біялагічна актыўных злучэнняў НАН Беларусі, Гродна, Рэспубліка Беларусь*

<sup>2</sup>*Гродзенскі дзяржаўны медыцынскі ўніверсітэт, Гродна, Рэспубліка Беларусь*

## **УПЛЫЎ КВЕРЦЭТЫНА І ЯГО КАМБІНАЦЫІ З ЦЫКЛАДЕКСТРЫНАМ НА ЗАГОЙВАННЕ АПЁКАВЫХ РАН У ЛАБАРАТОРНЫХ ПАЦУКОЎ**

**Аннотация.** Изучено заживление ожоговых ран у лабораторных крыс под влиянием кверцетина (КВ) и его комплекса с 2-гидроксипропил-β-циклодекстрином (КВЦД), наносимых на раневую поверхность. Крысам-самцам линии Wistar делали ожоги 3Б степени на участке кожи в межлопаточной области, защищенной камерой, с помощью железного стержня, нагретого до 80 °С. Выполнено две серии опытов: в первой (21 животное) рану старались вести бережно, во второй (18 животных) – в течение 3–7 сут из раны удаляли некротические ткани. В ходе исследования отслеживали динамику заживления, опираясь на морфометрические критерии, выявляли время наступления полной эпидермизации, определяли фагоцитарный индекс нейтрофилов (ФИ) в смывах с раневой поверхности, проводили гистологическое исследование ткани, после декапитации (на 21-е и 43-и сутки) определяли лейкоцитарную формулу крови, ФИ и метаболическую активность нейтрофилов.

Установлено, что удаление некротических тканей с раневой поверхности способствует более быстрому заживлению термического повреждения. Под влиянием данных веществ в первой серии опытов площадь вторичного струпа, присутствующего на раневой поверхности, оказалась меньше на 14-е сутки после повреждения, а в другой – увеличивались темпы эпидермизации раны на заключительном ее этапе. Выявлено позитивное влияние КВ и особенно КВЦД на возвращение к норме лейкоцитарной формулы крови, активизацию фагоцитарной и метаболической активности нейтрофилов на поверхности раны и в крови.

**Ключевые слова:** кверцетин, наноконкомплекс с циклодекстрином, ожог, контракция, эпидермизация, фагоцитарный индекс нейтрофилов

**Для цитирования:** Уплыў кверцэтына і яго камбінацыі з цыкладекстрынам на загойванне апёкавых ран у лабараторных пацуюкоў / А. А. Бакунович [і інш.] // Вес. Нац. акад. навук Беларусі. Сер. мед. навук. – 2019. – Т. 16, № 4. – С. 410–423. <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2019-16-4-410-423>

**A. A. Bakunovich<sup>1</sup>, A. A. Astrovski<sup>1</sup>, A. G. Shlyahatun<sup>1</sup>, V. L. Maroz<sup>1</sup>, X. B. Astrovskaaya<sup>2</sup>,  
V. D. Melamed<sup>2</sup>, V. U. Buko<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>*Institute of Biochemistry of Biologically Active Compounds of the National Academy of Sciences of Belarus,  
Grodno, Republic of Belarus*

<sup>2</sup>*Grodno State Medical University, Grodno, Republic of Belarus*

## **EFFECT OF QUERCETIN AND ITS COMBINATION WITH CYCLODEXTRIN ON THE HEALING OF BURN WOUNDS IN LABORATORY RATS**

**Abstract.** The aim of this study was to evaluate the effects of quercetin (QC) and its complex with 2-hydroxypropyl-β-cyclodextrin (QECD) in healing burn related skin wounds in the rat model. Male Wistar rats were subjected to third-degree burn injury of skin in the interscapular area using a metal rod heated to 80 °C. The area of the skin which the burn was applied to was secured from the surroundings by the protective chamber. In order to estimate the efficacy of different treatment modalities the experiments were carried out in two stages. On first stage of the study, the group of animals ( $n = 21$ ) was subjected to burn injury and the wound surface was not affected with additional procedures except the substances for treatment being applied. During the second stage of the study with another group of animals ( $n = 18$ ) the removal of necrotic tissue was carried out over the period of 3 to 7 days. The progress of the wound healing was followed by performing morphometric analyses in order to determine complete re-epithelialization. The phagocytic index of neutrophils was determined in washouts from the wounds during the healing process. The animals used on the first stage of the study were sacrificed at day 21 of the experiment and those on the second stage at day 43 and the tissues were subjected to histological examination. The amounts of white blood cells and phagocytic index of neutrophils were calculated in blood samples followed by the measurements of metabolic activities of neutrophils. The removal of necrotic tissue has been found to promote better wound healing caused by thermal exposure. No reliable evidence has been obtained on QC or QECD abilities to significantly accelerate the burn wound epithelialization. The square of the secondary wound scab covered the damaged skin surface has been found to be decreased in the first group of animals on the 14th day followed by the exposure while the rate of wound epithelialization has been found to be increased in the second group of animals at the final stage of wound healing under the treatment with substances being inves-

tigated. As a result the ability of QE and QECD to normalize the white blood cell differential, phagocytic and metabolic activities of neutrophils recruited to a wound and neutrophil blood levels has been found.

**Keywords:** quercetin, nanocomplex with cyclodextrin, burn, contraction, epidermization, phagocytic neutrophil index

**For citation:** Bakunovich A. A., Astrovski A. A., Shlyahun A. G., Maroz V. L., Astrovskaya X. B., Melamed V. D., Buko V. U. Effect of quercetin and its combination with cyclodextrin on the healing of burn wounds in laboratory rats. *Vesti Natsyonal'nai akademii navuk Belarusi. Seriya meditsinskikh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2019, vol. 16, no. 4, pp. 410–423 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2019-16-4-410-423>

**Уводзіны.** Задача спрыяння загойванню ран, у тым ліку апёкавых, – адна з актуальных у сучаснай хірургіі [1]. Гэта абумоўлівае пошук новых прэпаратаў і спосабаў іх выкарыстання, здольных усё больш эфектыўна яе вырашаць.

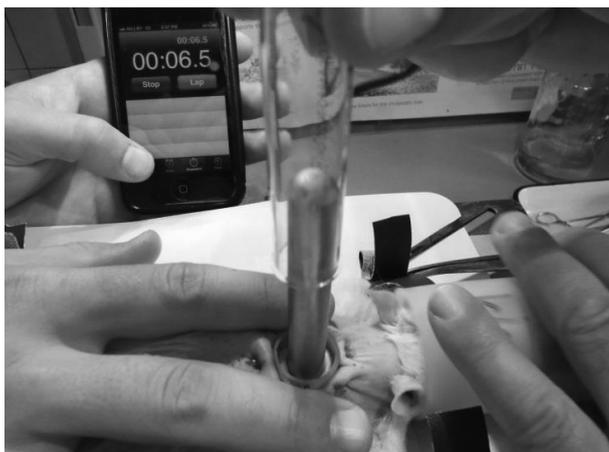
Кверцэтын (КВ) – шырока распаўсюджаны сярод раслін флаваноід-антыаксідант [2] – з’яўляецца адным з рэчываў, якое, як вядома, спрыяе загойванню паўнаслойных скурных дэфектаў механічнай прыроды [3–8]. Таксама КВ здольны аказваць імунапратэктывнае дзеянне [9], блакаваць медыятары запалення [10, 11]. Аднак дадзенае рэчыва кепска распускаецца ў вадзе [12], што абумоўлівае яго ўздзеянне пры вонкавым прымяненні на рану, пераважна на самыя паверхневыя яе пласты. Гэта можа абмяжоўваць лекавы патэнцыял КВ. Для істотнага павышэння распушчальнасці дадзенага рэчыва прапануецца выкарыстоўваць 2-гідроксіпрапіл-β-цыкладэкстрын (ЦД) [2, 13]. Паказана, што пры выкарыстанні малекулярнага комплексу кверцэтын-2-гідроксіпрапіл-β-цыкладэкстрын (КВЦД) у некаторых выпадках сапраўды забяспечваецца большы фармакалагічны эфект, чым пры выкарыстанні аднаго КВ [12]. Аднак навуковых прац, прысвечаных даследаванню ўплыву КВЦД на загойванне ран, у тым ліку апёкавых, намі не выяўлена.

Мэта дадзенага даследавання – вывучэнне ўздзеяння кверцэтына і кверцэтын-2-гідроксіпрапіл-β-цыкладэкстрына ва ўмовах іх вонкавага прымянення на загойванне апёкавых ран у лабараторных пацукоў.

**Матэрыялы і метады даследавання.** Даследаванне праведзена на 39 лабараторных пацуках-самцах лініі Wistar, якіх падчас знаходжання на іх скуры ахоўнай камеры (пра гэта далей) утрымлівалі ў індывідуальных клетках. Усе маніпуляцыі, якія патрабавалі абязбольвання і абезрухоўлення жывёл – выдаленне поўсці, падшыванне ахоўнай камеры, стварэнне апёка, перавязкі, забой (шляхам дэкапітацыі) – выконвалі пад эфірным наркозам.

Даследаванне ўключала дзве серыі доследаў: у першай серыі вывучалі ўплыў КВ і КВЦД на працэс загойвання апёкавай раны ва ўмовах яе ашчаднага вядзення; у другой рабілі тое ж, але ва ўмовах выдалення некратычных тканак з ранавай паверхні (што дазваляе пазбавіцца струпа як чынніка, перашкаджаючага дзеянню лекаў, і супадае з існуючай хірургічнай практыкай [14]).

У першай серыі быў выкарыстаны 21 пацук масай 260–310 г. Жывёлы былі падзелены на тры групы – 7 кантрольных, 7 «кверцэтынавых» і 7 «кверцэтынава-цыкладэкстрынавых». Непасрэдна перад аперацыяй у пацукоў у пярэдняй частцы спіны выскубвалі і выбрывалі поўсць. Аголеную скуру прамывалі і высушвалі. У міжлапчаткавай вобласці 8 швамі падшывалі ахоўную камеру з унутраным дыяметрам 19 мм, якая была зроблена з інэртнай пластмасы і мела таўшчыню сценкі 1 мм. Затым на ўчастку скуры, які аказаўся ўнутры камеры, з дапамогай круглага ў папярочным сячэнні сталёвага стрыжня стваралі апёк (мал. 1, пацук з аголенай у пярэдняй палове спіны скурай знаходзіцца пад эфірным наркозам; аперацыйны столік, на якім ён знаходзіцца; флакон з марлевым тампонам, праз які пацук атрымлівае эфірны наркоз; ахоўная камера, зафіксаваная швамі ў яго міжлапчаткавай зоне; нагрэты жалезны стрыжань, які стаіць на скуры; прабірка, якая забяспечвае вертыкальнае становішча стрыжня і яго стандартны ціск на скуру; секундамер, які адмярае час тэрмічнага ўздзеяння на скуру). Стрыжань меў масу 70 г, дыяметр – 12 мм. У водным тэрмастаце яго ўтрымлівалі не менш за паўгадзіны пры тэмпературы 80 °С, а затым хутка выціралі марляй і ўсталёўвалі ў вертыкальным становішчы на цэнтр участка скуры ўнутры ахоўнай камеры на 30 с. Увесь гэты час яго ўтрымлівалі з дапамогай цэнтрыфужнай прабіркі у вертыкальным становішчы (у папярэдне праведзеным даследаванні было выяўлена, што пасля такога ўздзеяння ў тоўшчы дэрмы на месцы кантакта са стрыжнем гінуць усе структуры скуры эктадэрмальнага паходжання, што характэрна для апёка 3Б ступені; загойванне пасля такога пашкоджання магчыма толькі за кошт кантракцыі раны і краявой эпідэрмізацыі [15]; зыходная плошча апёка ва ўмовах дадзенай мадэлі складала каля 135–140 мм<sup>2</sup>).



Мал. 1. Момант стварэння апёка ў міжлапаткавай зоне пацука

Fig. 1. The situation during the creation of a burn in the interscapular region of the rat

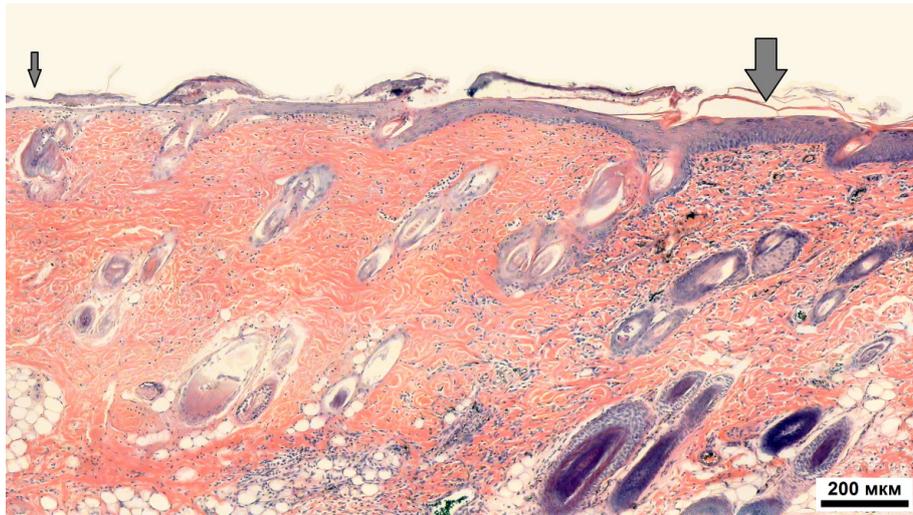
Пасля аперацыі пашкоджаны ўчастак фатаграфавалі разам з ахоўнай камерай. Затым на яго клалі 4 кавалкі марлі, зверху наносілі 200 мкл аднаго з раствораў: альбо ізатанічнага раствору хларыда натрыя з нейтральным рН (у жывёл кантрольнай групы), альбо суспензіі КВ ў раствору хларыда натрыя («кверцэтынавая» група); альбо комплекснай суспензіі КВЦД (група «кверцэтынава-цыкладэктрынавая»).

Адзначаныя растворы рыхтавалі па наступнай метадыцы: для атрымання суспензіі КВ навеску КВ (Sigma) масай 151 мг разводзілі фізіялагічным растворам (15,1 мл). Для атрымання нанаконплекса КВЦД выкарыстоўвалі КВ (Sigma) і ЦД (CYCLOLAB R&D. Ltd., Будапешт, Венгрыя). Нанаконплекс КВ быў атрыманы па метадзе, прапанаваным I. M. Savic і сааўт. [2]. Навеску КВ масай 151 мг (у разліку 10 мг на 1 мл канчатковага раствору) у ступцы перамешвалі з ЦД у малярных суадносінах 1:3 (выкарыстоўвалі 770 мг ЦД). Да атрыманай сумесі дадавалі 150 см<sup>3</sup> этанолу і ставілі раствор на магнітную мяшалку (600 аб/мін) на 24 гадз у цёмнае месца. Пасля перамешвання суспензію высушвалі ў сушыльнай шафе. Конплекс разводзілі фізіялагічным растворам (15,1 мл на 921 мг атрыманага конплекса). Канцэнтрацыя гатовага раствору конплекса складала 0,033 моль/л [2].

На наступны дзень пацукам давалі наркоз, камеру адкрывалі, выдалялі перавязачныя матэрыялы, апечаны ўчастак зноў фатаграфавалі і на яго клалі новыя кавалкі марлі, якія прапітвалі свежай порцыяй адпаведнага раствору. Такія перавязкі праводзілі штодзённа ўсім жывёлам да поўнай эпідэрмізацыі ранавай паверхні (17–25 сут). Пасля гэтага ахоўную камеру выдалялі, а рана рэарганізоўвалася яшчэ 3 тыдні.

Самым важным крытэрыем для ацэнкі загойвання апёка лічылі час, які прайшоў ад моманту стварэння апёка і да таго дня, калі ранавая паверхня ўпершыню цалкам пакрывалася эпідэрмісам. Галоўным крытэрыем для ацэнкі зыходнай плошчы апёка (для замеру абсалютнай плошчы структур, зафіксаваных на фота, выкарыстоўвалі камп'ютарную праграму Image-Pro Plus) была абрана дэмаркацыйная лінія, якая з'яўлялася праз 2 сут пасля апёку, размяшчалася на мяжы паміж жывой ды мёртвай скурай і выглядала як ружовае гіперэмічнае кола таўшчынёй каля 1 мм (з'яўленне гэтай лініі, як было пацверджана ў папярэдніх доследах, абумоўлена разрастаннем багатай капілярнай сеткі, якая прасвечваецца скрозь эпідэрміс (мал. 2, 3; на мал. 3 бачны агульны выгляд гіперэмічнага кола на 2-я, 3-я суткі). Суаднесенасць плошчы скуры, абмежаванай гіперэмічным колам праз 2 сут пасля апёку, з пазней атрыманымі звесткамі пра час, які пайшоў на поўную эпідэрмізацыю апёка, дазволіла атрымаць другі колькасны паказчык – сярэднія тэмпы загойвання (для гэтага першы паказчык дзялілі на другі). Вымярэнне плошчы апёка (як плошчы скуры, абмежаванай ружовай дэмаркацыйнай лініяй) на працягу 2–9 сут дазволіла атрымаць дынаміку загойвання раны ў 1-я суткі пасля апёку.

Паколькі струп, у які ператвараліся павярхоўныя пласты некратычных тканак, не дазваляў сачыць за цяжэннем рэпаратывнага працэсу на заключным яго этапе (і, што асабліва важна,



Мал. 2. Мяжа паміж некратычнай і жыццяздольнай скурай праз 3 сут пасля апёку на гісталагічным зрэзе. (Непасрэдна перад вывадам з эксперыменту пацуку ўводзілі туш, якая меціла прахадзімыя капіляры. Найбольшая іх колькасць разам з фагацытамі знаходзіцца пад эпідэрсам (шырокая стрэлка). Справа бачны жыццяздольныя валасяныя фалікулы, сальныя залозы, злева – загінулыя. Эпідэрс з жыццяздольнага ўчастка нарос на некратычны (вузкая стрэлка.)) Фота з дадатковага даследавання

Fig. 2. The boundary between necrotic and viable skin on a histological section after 3 days following the burn. Immediately before decapitation, the rat was injected with indian ink which labeled the capillaries. Their greatest number along with phagocytes was located under the epidermis in the place indicated by the broad arrow. Viable hair follicles and sebaceous glands are visible on the right. Dead ones are located on the left. The epidermis from the viable area grew to the necrotic area to the point indicated by the narrow arrow (photo from additional study)

перашкаджаў дакладна вызначыць момант наступлення поўнай эпідэрсізацыі), пачынаючы з 12-х сутак пасля апёку, яго перыядычна акуратна выдалялі (наступныя выдаленні струпа рабілі праз 15, 17, 19, 21, 23 і 25 сут пасля апёку). Новы струп, які фарміраваўся праз 1–2 сут, адпавядаў памерам ранавай паверхні пасля выдалення папярэдняга струпа. Вымярэнне плошчы новага струпа (на 14-я суткі) дазваляла ацаніць плошчу апёкавай раны праз 2 тыдні пасля пашкоджання, а суаднясенне гэтага параметра з часам, які спатрэбіўся для таго, каб завяршыць эпідэрсізацыю (у дадатковы да 14 сут час), дазваляла выявіць тэмпы загойвання на заключнай фазе.

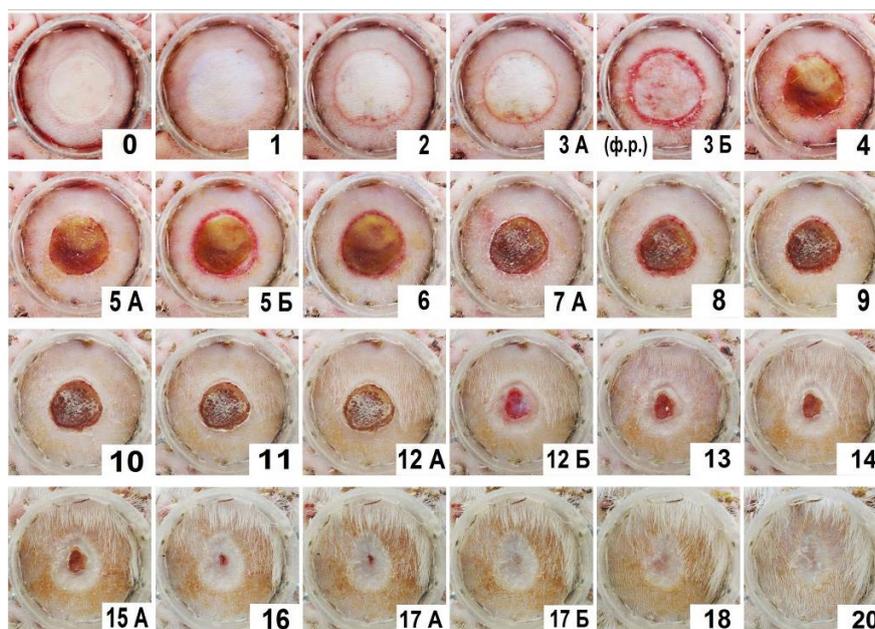
Акрамя адзначанага, на 12-я суткі пасля апёку з ранавай паверхні рабілі змывы, выкарыстоўваючы ізатанічны раствор хларыда натрыя, і выяўлялі фагацытарны індэкс (ФІ) нейтрафілаў. Аб'ектам фагацытозу была 10 %-ная полістырольная суспензія часцінак латэксу (Sigma) памерам 1,5 мкм.

У дадзенай серыі пасля завяршэння эпідэрсізацыі ран ў пацукоў выдалялі ахоўную камеру, а іх саміх пакідалі яшчэ на 3 тыдні, каб прасачыць за вынікам рэмадэлявання ўжо загоенай раны. Праз 43 дні пасля апёку ў жывёл на скуры вакол месца былога апёка нажніцамі зразалі валасы. Вобласць былой раны фатаграфавалі і на здымку вымяралі плошчу безвалосага рубца.

Затым жывёл выводзілі з эксперыменту. Пасля дэкапітацыі ў іх бралі кроў, у якой ацэньвалі ФІ і метабалічную актыўнасць нейтрафілаў (у апошнім выпадку выкарыстоўвалі гістахімічны тэст аднаўлення нітрасіянага тэтразолія ў фармазан – НСТ-тэст) [16–18].

У другой серыі было выкарыстана 18 пацукоў масай 280–380 г. Усе яны таксама былі падзелены на тры групы – 6 кантрольных, 6 «кверцэтынавых», 6 «КВЦД». Рэчывы, якія наносіліся на іх ранавую паверхню, былі тымі ж, што і ў першай серыі. Усе іншыя маніпуляцыі праводзілі аналагічна, аднак мелася некалькі адрозненняў.

Галоўнае з іх заключалася ў тым, што ва ўсіх жывёл другой серыі праз 3, 5 і 7 сут пасля апёку з ранавай паверхні выдалялі некратычныя тканкі (наколькі гэта было магчыма) шляхам іх выскрабання з дапамогай скальпеля. Падчас такога выскрабання ніжнія пласты дэрмы не прарываліся, крывацёк адсутнічаў (увесь працэс загойвання апёкавай раны прадэманстраваны на мал. 3). Яшчэ адно адрозненне заключалася ў тым, што жывёл дадзенай серыі забівалі на 21-я суткі.



Мал. 3. Прыклад загойвання апёкавай раны ў аднаго з пацукоў кантрольнай групы другой серыі. Лічбы пад фотаздымкамі азначаюць колькасць сутак, якія прайшлі пасля стварэння апёка (для поўнай эпідэрмізацыі неабходна 17 сут). Літары А і Б паказваюць выгляд апечанага ўчастка да і пасля выдалення некратычных тканак ці струпа ў адпаведны час (3, 5, 7, 12, 16, 18 сут). У дадзеным выпадку ўжо на 5-я суткі пасля апёку быў сфармаваны дастаткова цвёрды струп (што больш характэрна для жывёл кантрольнай групы)

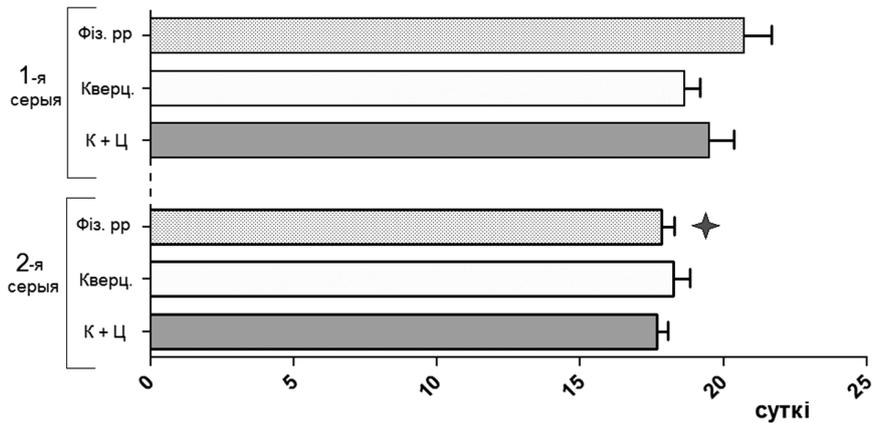
Fig. 3. An example of the healing of a burn wound in a control rat of the second series. The numbers under the photographs indicate the number of days after the creation of burns ( in this case, the time required for complete epidermisia, was 17 days). Letters A and B indicate the type of the burned area before and after the removal of the necrotic tissue or the scab at the appropriate time (3, 5, 7, 12, 16, and 18 days). In this case, which is more typical for the animals of the control group, a fairly hard scab was formed as early as on the 5th day after the burn

У пацукоў кантрольнай і «кверцэтын-цыкладэкстрынавай» групы з месца былой раны бралі тканкі для гісталагічнага даследавання. Проставугольныя кавалкі скуры даўжынёй каля 1,5 см, якія праходзілі праз цэнтр апёка, у распаўленым стане і пры натуральным нацяжэнні фіксавалі ў сумесі фармалін–спірт–воцатная кіслата, залівалі ў парафін. Зрэзы таўшчынёй 6 мкм, якія праходзілі ў франтальнай плоскасці, афарбоўвалі гематаксілінам і эазінам, а таксама па Малоры.

Статыстычную апрацоўку атрыманых колькасных даных праводзілі з дапамогай праграмы GraphPad Prism, Version 5. Дакладнасць адрозненняў ( $p$ ) паміж сярэднімі данымі ( $M \pm m$ , дзе  $M$  – сярэдняе арыфметычнае;  $m$  – стандартная памылка сярэдняга) вызначалі па няпарным  $t$ -тэсце. Таксама праводзілі стандартны карэляцыйны аналіз. Выбаркі правяралі на нармальнасць пры дапамозе крытэрыя Шапіра–Уілка і крытэрыя Калмагорава–Смірнова з папраўкай Лілліефорса.

**Вынікі і іх абмеркаванне.** Інтэрвал часу, які спатрэбіўся для поўнай эпідэрмізацыі апечанай скуры (эпідэрмізацыя адбывалася разам з кантракцыяй) вагаўся ў розных групх жывёл абедзвюх серый у інтэрвале 17,7–20,7 сут (мал. 4), а тэмпы эпідэрмізацыі – у інтэрвале 7,02–7,98 мм<sup>2</sup>/сут. Уздзеянне КВ і КВЦД недакладна скараціла працягласць загойвання ў жывёл першай серыі. У жывёл другой серыі ніякага пазітыўнага ўплыву гэтых рэчываў на дадзены паказчык не выяўлена, затое час, які пайшоў на эпідэрмізацыю, у цэлым у іх быў меншы, чым у жывёл першай серыі, і меншы пры супастаўленні паміж сабой дзвюх кантрольных груп (дакладнага адрознення па тэмпах рэгенерацыі ні пры якіх параўнаннях не выяўлена).

Такім чынам, пры выкарыстанні дадзенай мадэлі пры механічным выдаленні некратычных тканак працягласць эпідэрмізацыі апёкавай раны (скарачэнне часу на 14 % пры параўнанні кантрольных груп) пазітыўны ўплыў аказаўся большым, чым пры выкарыстанні рэчываў. Асноўная прычына падобнага выніку хутчэй за ўсё заключаецца ў тым, што пры наяўнасці некратычных тканак у ране яны спачатку мусяць быць выдалены з дапамогай посттраўматычнага запалення (на што ідуць рэсурсы арганізма і час), каб потым мог пачацца ўласна рэпаратывыны



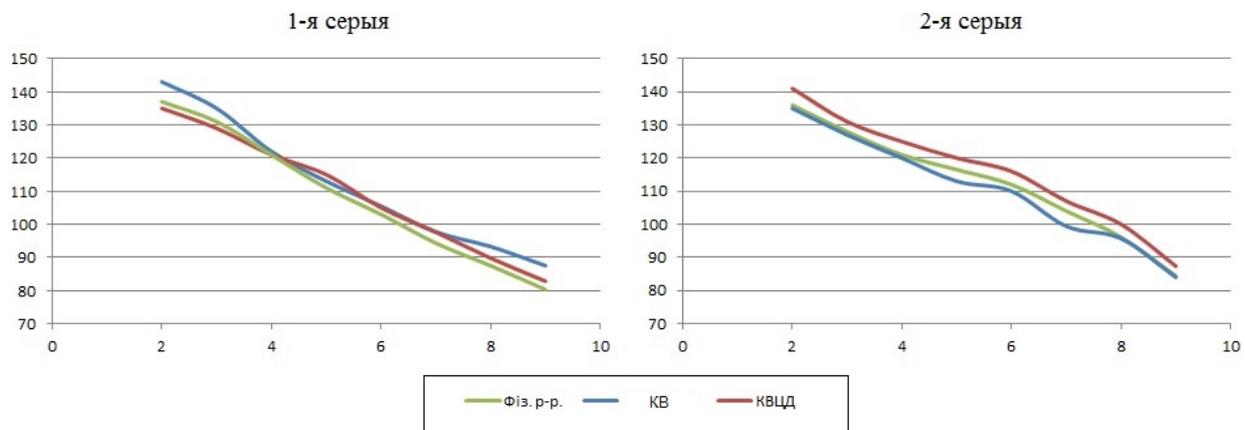
Мал. 4. Працягласць загойвання апёкавай раны ў жывёл абедзвюх серый. Зоркай пазначаны даставерныя адрозненні пры параўнанні кантрольных груп

Fig. 4. The duration of healing of burn wounds in animals of both series. The star indicated significant differences when comparing the control groups

працэс. Гэта даўно вядома ў медыцыне. Таму хірургі імкнуцца выдаляць некратычныя тканкі з апечанай скуры, як толькі апошнія пачынаюць дыферэнцавацца на фоне яе жыццяздольных участкаў [14].

У першай серыі нашых доследаў некратычныя тканкі таксама маглі быць перашкодай для выяўлення магчымага стымуляцыйнага патэнцыяла выкарыстаных рэчываў. І ўсё ж невялікае (на 2–4 %) павелічэнне сярэдніх тэмпаў эпідэрмізацыі пашкоджанага ўчастка скуры магло спрыяць пэўнаму скарачэнню часу загойвання ў «кверцэтынавых» жывёл першай серыі (мал. 4).

Дынаміка працэсу скарачэння плошчы апечанага ўчастка, абмежаванага ружовай дэмаркацыйнай лініяй, паказана на мал. 5. На працягу 2–9 сут у межах адной і той жа серыі не выяўлена дакладных адрозненняў паміж групамі па дадзеным колькасным параметры. Аднак трэба падкрэсліць, што ў другой серыі (дзе ў пацукоў выдаляліся некратычныя тканкі) у параўнанні з першай серыяй (дзе мёртвыя тканкі не выдаляліся) назіралася ваганне некаторых дынамічных ліній. «Пераломы» былі асабліва выразныя пасля 5 і 7 сут. Гэта абумоўлена хутчэй за ўсё тым, што пры спробах выдалення некратычных тканак адбывалася дадатковая траўматызацыя тканак у ране, што тармазіла скарачэнне памераў пашкоджанага ўчастка ў наступныя 24 гадз. Затое потым рэпарацыя паскаралася.



Мал. 5. Дынаміка скарачэння абсалютнай плошчы ўчастка скуры, абмежаванага дэмаркацыйнай лініяй, у жывёл абедзвюх серый на працягу 2–9 сут пасля апёку

Fig. 5. Dynamics of reduction of the absolute area of the skin area limited by the demarcation line in animals of both series within 2–9 days after the burn

У выкарыстанай мадэлі істотнымі параметрамі на завяршальнай стадыі загойвання сталі памер струпа на ранавай паверхні праз 14 сут пасля апёку і тэмпы эпідэрмізацыі пасля траўмы (табл. 1). Вынікае, што ў першай серыі ўздзеянне КВ даставерна паспрыяла (КВЦД на мяжы дакладнасці) памяншэнню плошчы дадзенай структуры (што цалкам узгадняецца з данымі, прыведзенымі на мал. 4), а ў другой – наадварот, павелічэнню. Парадаксальнасць сітуацыі, верагодна, можна растлумачыць тым, што большы струпу у «кверцэтынавых» жывёл другой серыі – гэта ўсё яшчэ наступства дадатковай дэструктыўнасці механічнага выдалення некратычных тканак на 5-я і 7-я суткі, што ў сваю чаргу абумоўлена большай рыхласцю паверхневых некратычных тканак у той час (у будучых аналагічных даследаваннях варта ўлічваць дадзены феномен і выдаляць некратычныя тканкі, калі такое плануецца, аднаразова (напрыклад, праз 3 сут пасля апёку).

Табліца 1. Плошча струпа на ранавай паверхні праз 14 сут пасля апёка і тэмпы эпідэрмізацыі раны на заключным этапе

Table 1. The area of the scab on the ravai surface 14 days after the burns and the rate of epidermisia of wounds at final stage

1-я серыя (ашчадна-пасіўнае вядзенне раны)			2-я серыя (выдаленне некратычных тканак)		
Фіз. р-р	КВ	КВЦД	Фіз. р-р	КВ	КВЦД
Плошча струпа на 14-я суткі, мм <sup>2</sup>					
31,4 ± 2,0	23,6 ± 1,4 <i>p</i> <sub>1</sub> = <b>0,0072</b>	25,8 ± 2,2 <i>p</i> <sub>1</sub> = 0,0828	15,8 ± 2,3 <i>p</i> <sub>2</sub> = <b>0,0003</b>	32,3 ± 2,9 <i>p</i> <sub>1</sub> = <b>0,0012</b> <i>p</i> <sub>2</sub> = <b>0,0164</b>	24,2 ± 3,4 <i>p</i> <sub>1</sub> = 0,0646 <i>p</i> <sub>2</sub> = 0,6873
Тэмпы заключнага этапа эпідэрмізацыі, мм <sup>2</sup> /сут					
5,09 ± 0,55	5,42 ± 0,55 <i>p</i> <sub>1</sub> = 0,6799	5,19 ± 0,56 <i>p</i> <sub>1</sub> = 0,9047	4,20 ± 0,50 <i>p</i> <sub>2</sub> = 0,2599	7,91 ± 0,52 <i>p</i> <sub>1</sub> = <b>0,0004</b> <i>p</i> <sub>2</sub> = <b>0,0076</b>	6,55 ± 0,50 <i>p</i> <sub>1</sub> = <b>0,0077</b> <i>p</i> <sub>2</sub> = 0,1014

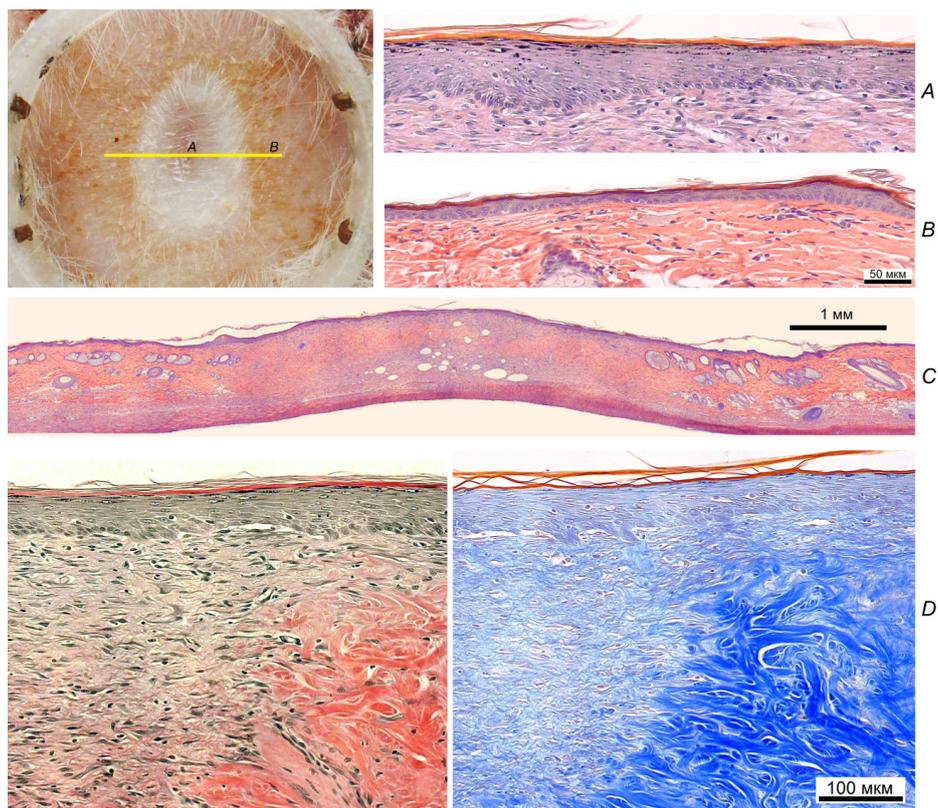
З а ў в а г а. Даставернасць адрозненняў па няпарным *t*-тэсце: *p*<sub>1</sub> – адносна кантроля ўнутры адной серыі (фіз. р-р); *p*<sub>2</sub> – паміж аналагічнымі групамі ў дзвюх серыях.

Істотна меншыя памеры струпа на 14-я суткі ў жывёл кантрольнай групы другой серыі ў параўнанні з аналагічнай групай першай серыі (табл. 1) таксама адпавядаюць разгледжаным вышэй даным аб працягласці эпідэрмізацыі апёкавай раны (гл. мал. 4).

Што датычыцца жывёл другой серыі, дадатковыя ўдакладненні былі атрыманы, калі былі ацэнены тэмпы эпідэрмізацыі апёкавай раны на заключным этапе (нагадаем, гэта рабілася шляхам вызначэння адносін плошчы струпа на 14-я суткі пасля апёку і часу, які прайшоў з гэтага моманту да канчатковай эпідэрмізацыі). Як бачна з табл. 1, у жывёл гэтай серыі эпідэрмізацыя ў абедзвюх «кверцэтынавых» групах адбывалася на заключным этапе істотна большымі тэмпамі ў параўнанні з кантролем.

У жывёл другой серыі праз 21 сут пасля апёку былая ранавае, а потым эпідэрмізаваная паверхня (на ёй адсутнічалі валасы і сальныя залозы, яна мела ў цэлым святлейшы колер – гл. мал. 2, 11) была па сваёй плошчы істотна меншай у параўнанні з плошчай, абмежаванай ружовым колам праз 2–3 сут пасля апёку. Форма пашкоджаных участкаў заставалася авальнай, але была, як правіла, некалькі выцягнутай па сагітальнай лініі.

На гісталагічных прэпаратах ва ўсіх выпадках апечаны ўчастак скуры цяпер сапраўды быў цалкам эпідэрмізаваным і безвалосым (мал. 6). Пры гэтым эпідэрміс меў акрамя базальнага выразнага шыпаваты, зярністы (з грубымі керацінаватымі грануламі) і рагавы слаі. З-за гэтага агульны пласт жыццяздольных керацінацытаў (без уліку арагавелых керацінацытаў) быў у ім таўсцейшым у параўнанні з такім у эпідэрмісе, які пакрываў скуру за межамі тэрмічнага пашкоджання (мал. 6). Сярод керацінацытаў у пласце, які пакрываў апечаны ўчастак, нярэдка можна было сустрэць макрафагі і лімфацыты. Улічваючы прысутнасць мітозаў керацінацытаў, праліфератыўныя працэсы ў рэгенераваным эпідэрмісе працягваліся. У адрозненне ад эпідэрміса на



Мал. 6. Гісталагічная карціна ў вобласці былога апёка скуры на фронтальным зрэзе праз 21 сут пасля ўздзеяння (злева ўверсе паказаны макраскапічны выгляд апечанага ўчастка ўнутры ахоўнай камеры; жоўтая лінія паказвае лінію рэзкі; літары *A* і *B* указваюць на месца знаходжання эпідэрміса). *A* – выгляд эпідэрміса на паверхні грануляцыйнай тканкі ў цэнтры апечанага ўчастка; бачна павялічаная таўшчыня неарагавелых пластоў эпідэрміса, структура падлежачай злучальнай тканкі; *B* – тыповы выгляд эпідэрміса і сасочкавага слоя дэрмы на тэрыторыі інтактнай скуры; *C* – агульна-панарамны выгляд скуры ўнутры ахоўнай камеры на фронтальным зрэзе, які ўключае пашкоджаную цэнтральную частку і дзве непашкоджаныя перыферычныя зоны; за межамі зоны апёка прысутнічаюць шматлікія валасяныя фалікулы, у цэнтры прэпарата яны адсутнічаюць; *D* – частка на мяжы апечанай і неапечанай зон на двух суседніх зрэзах, афарбаваных гематаксілінам ды эазінам (злева) і па Малоры (справа)

Fig. 6. The histological picture in the area of the former skin burn on the frontal section 21 days after the exposure (top left shows the macroscopic view of the burned area inside the protective chamber; rat head above, the yellow line shows the cutting line; letters *A* and *B* indicate the location of the epidermis indicated below). Shown: *A* – a view of the epidermis on the surface of granulation tissue in the center of the burned area; visibly increased thickness of non-keratinized epidermis, the structure of the underlying connective tissue; *B* – a typical view of the epidermis and papillary dermis on the territory of intact skin; *C* – a general view of the skin inside the protective chamber on the frontal section which includes the damaged central part and two intact peripheral zones; outside the burn zone, many hair follicles are present, they are absent in the center of the preparation; *D* – the area on the border of the burned and unburned zones on two adjacent sections stained with hematoxylin and eosin (left) and Mallory (right)

неапечаных участках, эпідэрміс на тэрыторыі былога апёка часта аказваўся адслоеным ад падлеглай злучальнай тканкі на большым ці меншым працягу.

На месцы былога апёка пад эпідэрмісам знаходзіцца грануляцыйная тканка, у складзе якой сярод калагенавых валокнаў усё яшчэ прысутнічае вялікая колькасць макрафагаў, фібраблстаў, капіляраў (мал. 6). Шматлікія калагенавыя валокны ў новаўтворанай грануляцыйнай тканцы ў некалькі разоў больш тонкія, чым калагенавыя валокны інтактнай дэрмы. Адрозніваюцца яны і характарам свайго перапляцення, што асабліва добра бачна на мяжы дадзеных відаў злучальнай тканкі (мал. 6). На зрэзах калагенавыя валокны на месцы былога апёка часта выглядаюць змеяпадобна выгнутымі, што, верагодна, з'яўляецца марфалагічнай праявай працэсу кантракцыі раны, які ў гэты час працягваецца.

У тоўшчу грануляцыйнай тканкі, утворанай на месцы былога пашкоджання, у кірунку цэнтра клінамі з абодвух бакоў уваходзяць участкі безвалосай дэрмы (мал. 6). Гэтыя ўчасткі і ствараюць

блэсы фон апечанага ўчастка (жаўтавата-буры фон інтактнай скуры навокал, верагодна, абумоўлены скурным салам, якое выдзяляецца на яе паверхню з валасяных фалікулаў), а меншая блэсасць у самым цэнтры апёка абумоўлена большай долевай прысутнасцю тут грануляцыйнай тканкі.

У тоўшчы апечанага ўчастка практычна заўсёды прысутнічаюць акруглыя поласці большага ці меншага памеру (мал. 6). Паколькі ў некаторых выпадках такія поласці аказваюцца запоўненымі рагавымі масамі, можна меркаваць, што яны ўтвораны трыхацытамі валасяных фалікулаў, якія перажылі тэрмічнае ўздзеянне, захавалі праліфератыўны патэнцыял, але з-за разбурэння іншых клеткавых кампанентаў, без якіх яны не могуць паўнаважна функцыянаваць, былі не ў стане сфармаваць валасяныя фалікулы *de novo*, а замест гэтага сфармавалі мікракісты (аднак для дакладнага адказу на пытанне, што гэта за поласці, патрабуецца дадатковае гісталагічнае даследаванне). Падскурная цягліца непасрэдна пад цэнтрам апёка ў большасці выпадкаў адсутнічала, але ў некаторых выпадках назіраўся працэс яе рэгенерцыі. Тут жа пераважна ў больш глыбокіх пластах грануляцыйнай тканкі ў вялікай колькасці знаходзіліся макрафагі, запоўненыя жоўта-карычневымі ліпафусцынавымі грануламі.

Праведзена параўнанне морфаметрычных рыс, выяўленых на гісталагічных зрэзах апечаных участкаў скуры праз 21 сут пасля пашкоджання, характэрных для жывёл кантрольнай і «кверцэтын-цыкладэкстрынавай» груп (табл. 2). Як бачна, ні адзін з параметраў даставерна не адрозніваўся паміж дадзенымі групамі.

Табліца 2. Паказчыкі, вымераныя на гісталагічных зрэзах праз 21 сут пасля апёка

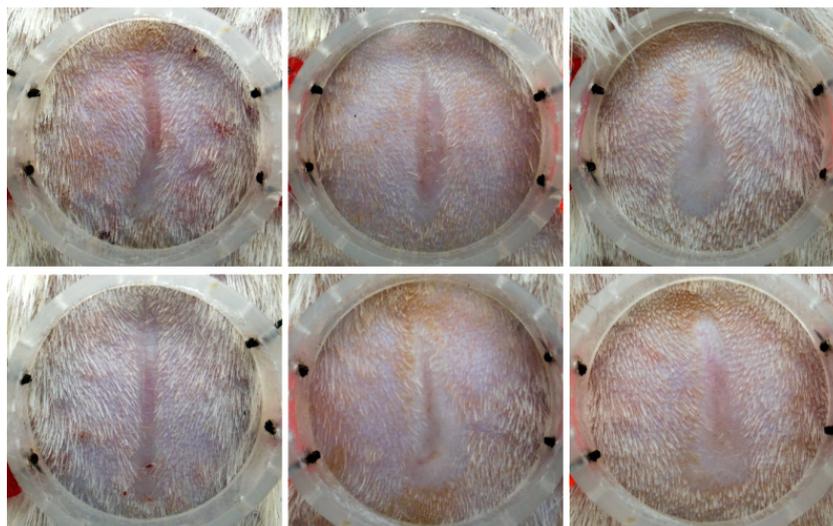
Table 2. Values measured on the histological slides after 21 days following burn

Адлегласць паміж валас. фалікуламі справа і злева ад зоны апёка, мм	Даўжыня мяжы паміж эпідэрмісам і грануляц. тканкай, мм	Таўшыня неарагавелай часткі эпідэрміса ў цэнтры апёка, мкм	Доля адслоенага ад грануляц. тканкі эпідэрміса, %	Колькасць мітозаў у разліку на 1 мм даўжыні эпідэрміса на паверхні грануляц. тканкі
Фіз. р-р				
5,99 ± 0,23	5,19 ± 0,27	43,4 ± 2,74	16,0 ± 7,2	0,49 ± 0,11
КВЦД				
6,74 ± 0,42	5,71 ± 0,50	47,1 ± 5,35	13,7 ± 5,4	0,61 ± 0,26
$p_1=0,1511$	$p_1=0,3783$	$p_1=0,5503$	$p_1=0,8010$	$p_1=0,6798$

З а ў в а г а.  $p_1$  – даставернасць адрозненняў па няпарным *t*-тэсце адносна кантроля ўнутры адной серыі (фіз. р-р). Тое ж у табл. 3.

Безвалосыя шнары, якія сфармаваліся ў пацукоў першай серыі у выніку рэмадэлявання рубца за дадатковыя пасля завяршэння эпідэрмізацыі 3 тыдні (праз 43 дні пасля апёку), былі выразана выцягнутымі ўздоўж сагітальнай лініі, пры гэтым часцей мелі альбо верацэнападобную, альбо кроплепадобную форму (мал. 7; параўн. з фота на мал. 3). У апошнім выпадку іх завостраны канец паказваў у кірунку галавы, а закруглены – каўдальна. Гэта доказ таго, што істотныя пераўтварэнні ў апечанай скуры адбываліся і пасля завяршэння эпідэрмізацыі. Галоўную ролю тут выконваюць фібрабласты і міяфібрабласты, якія і пад эпідэрмісам працягваюць забяспечваць кантракцыю раны з адначасовым ператварэннем у яе тоўшчы грануляцыйнай тканкі ў рубцовую [19]. Згодна з нашай мадэллю, названыя працэсы маюць тэндэнцыю да паслядоўнасці ў кірунку ад галавы да хваста, а галоўныя сілы кантракцыі дзейнічаюць у папярочным адносна сагітальнай лініі кірунку. Апошняе, верагодна, тлумачыцца тым, што кантракцыя стымулюецца «сцяканнем» скуры па баках тулава пацука [20]. У цэлым шнары мелі плошчу ў межах 31–33 мм<sup>2</sup>, што складала каля 1/4–1/5 ад зыходнай плошчы апечанай скуры. Даставерных адрозненняў паміж дадзенымі паказчыкамі ў жывёл трох груп другой серыі не выяўлена.

У выніку імуналагічнага даследавання зываў, узятых з паверхні апёкавай раны ў пацукоў першай серыі на 12-я суткі пасля апёку, выяўлена, што ў жывёл кантрольнай групы ФІ склаў 48,0 ± 7,0, а ў жывёл, якім на рану штодзённа наносілі КВ і КВЦД – 71,6 ± 5,6 % ( $p = 0,0304$ ) і 90,4 ± 3,8 % ( $p = 0,0007$ ) адпаведна. Такім чынам, абодва рэчывы аказвалі стымулюючы ўплыў, але ў «кверцэтын-цыкладэкстрынавага» комплексу ён быў большым. Актывацыя мясцовай фага-



Мал. 7. Варыянты выгляду вобласці былога тэрмічнага пашкодвання праз 43 дні пасля апёку ў 6 пацуюў.  
Поўсць пастрыжана, на скуру для маштабу пакладзена ахоўная камера дыяметрам 21 мм.  
Галава пацука знаходзіцца ўверсе

Fig. 7. Variants of the type of the area of the former thermal damage 43 days after the burn by example of 6 rats.  
Wool is trimmed, a protective chamber with a diameter of 21 mm is applied to the skin.  
Rat is placed tail to the viewer

цытарнай рэакцыі ў ране, верагодна, звязана з уплывам даследаваных злучэнняў на рэцэптарны апарат нейтрафілаў раны. Большы ўплыў нанаконструкцыі ў параўнанні з манапрапаратам можна патлумачыць павышэннем біядаступнасці КВ у зоне апёка.

Даследаванне крыві паказала, што ў жывёл першай серыі лейкацытарная формула крыві нармалізавалася значна хутчэй (асабліва колькасць нейтрафільных лейкацытаў і лімфацытаў) пад уплывам КВЦД (табл. 3). У жывёл другой серыі асноўныя параметры лейкацытарнай формулы крыві адпавядалі норме. Што да ФІ, то ў кантрольных пацуюў абедзвюх серый ён быў зніжаны (табл. 3) адносна нормы [12], а пад уплывам кверцетына падвышаўся, прычым у другой серыі – дакладна. У КВЦД-групам жывёл абедзвюх серый, мяркуючы па выніках НСТ-тэста, таксама дакладна павышалася адносна катроля метабалічная актыўнасць нейтрафілаў. Атрыманыя вынікі можна патлумачыць актывацыяй рэцэптарнага апарата нейтрафілаў крыві, актывацыяй унутры-клеткавых мікрабацыйных сістэм.

Табліца 3. Імуналагічныя паказчыкі крыві пасля апрацоўкі апёкавай раны КВ і яго нанаконструкцыя з ГПЦД

Table 3. Immunological blood parameters after treating a burn wound with QE and its nanocomplex with QECD

Паказчык	Непасрэдна пасля загойвання (1-я серыя)			Праз 43 дні пасля гаення (2-я серыя)	
	Фіз. р-р	КВ	КВЦД	Фіз. р-р	КВЦД
Нейтрафілы, %	33,8 ± 2,17	34,1 ± 5,20 $p_1=0,4655$	27,35 ± 2,00 $p_1=0,0281$	20,0 ± 4,34	21,6 ± 5,44 $p_1=0,4267$
Эазінафілы, %	3,36 ± 0,81	3,17 ± 1,02 $p_1=0,4500$	2,35 ± 0,62 $p_1=0,1730$	5,785 ± 0,83	2,13 ± 1,80 $p_1=0,0304$
Монацыты, %	11,4 ± 1,80	7,01 ± 1,92 $p_1=0,0643$	8,725 ± 1,18 $p_1=0,1200$	13,5 ± 3,57	7,77 ± 2,80 $p_1=0,4911$
Лімфацыты, %	51,4 ± 3,025	55,8 ± 4,70 $p_1=0,2107$	61,6 ± 2,54 $p_1=0,0134$	60,7 ± 3,44	68,5 ± 4,00 $p_1=0,1200$
ФІ, %	28,5 ± 8,09	45,2 ± 9,10 $p_1=0,1002$	36,0 ± 6,875 $p_1=0,2481$	25,3 ± 2,90	38,75 ± 6,08 $p_1=0,0279$
НСТ-тэст, %	23,8 ± 5,86	26,7 ± 4,32 $p_1=0,3484$	46,2 ± 6,405 $p_1=0,0161$	31,2 ± 4,60	40,0 ± 6,52 $p_1=0,0325$

Дадатковую інфармацыю аб сувязях паміж ключавымі колькаснымі параметрамі ранавага працэсу, атрыманымі ў даследаванні, даў карэляцыйны аналіз.

Найбольш моцныя і даставерныя карэляцыйныя сувязі ў першай серыі аказаліся паміж такімі паказчыкамі, як сярэднія тэмпы эпідэрмізацыі і тэмпы эпідэрмізацыі на яе заключным этапе ( $r = 0,89$ ), паміж гэтымі двума паказчыкамі і агульнай працягласцю эпідэрмізацыі ( $r = 0,85$  у абодвух выпадках), а таксама паміж плошчай раны на завяршальным этапе эпідэрмізацыі, ацэненай па плошчы струпа на 14-я суткі пасля апёку, і працягласцю эпідэрмізацыі ( $r = 0,76$ ). Аднак зыходная плошча апёка, ацэненай па ружовым коле, аказалася слаба звязанай з сярэднімі тэмпамі эпідэрмізацыі ( $r = 0,46$ ;  $p = 0,0369$ ) і ніяк не звязанай з яе працягласцю ( $r = 0,06$ ). Своеасаблівай праверкай на надзейнасць атрыманых вынікаў стала выяўленне карэляцыйных сувязей паміж адзначанымі параметрамі ў другой серыі. І тут, нягледзячы на выдаленне некратычных тканак, выявілася станоўчая сувязь паміж працягласцю эпідэрмізацыі і плошчай струпа на 14-я суткі пасля апёку ( $r = 0,65$ ), а таксама паміж апошнім паказчыкам і тэмпамі загойвання на заключным этапе ( $r = 0,63$ ). У дадзенай серыі павялічылася станоўчая сувязь паміж зыходнай плошчай апёка і сярэднімі тэмпамі эпідэрмізацыі ( $r = 0,66$ ;  $p = 0,0029$ ), а сувязь першага паказчыка з працягласцю эпідэрмізацыі засталася слабай ( $r = 0,44$ ;  $p = 0,0704$ ). Такім чынам, ва ўмовах выкарыстанай мадэлі такі параметр, як плошча струпа на 14-я суткі пасля пашкоджання, нечакана вылучыўся ў якасці адзнакі, якая можа на прамежкавым этапе загойвання прагназаваць працягласць эпідэрмізацыі апёкавай раны, тады як зыходная плошча апёка можа слаба прагназаваць сярэднія тэмпы эпідэрмізацыі і не здольна прагназаваць яе працягласць.

Істотныя сувязі былі выяўлены і паміж колькаснымі данымі, атрыманымі пры гісталагічным даследаванні (другая серыя, 21-я суткі пасля апёка). Так, дастаткова моцнымі аказаліся сувязі паміж шырынёй зоны апёка, ацэненай па фота, і адлегласцю паміж валасянымі фалікуламі справа і злева ад гэтай зоны ды даўжынёй лініі кантакта эпідэрміса з грануляцыйнай тканкай, выяўленымі на гісталагічных зрэзах ( $r = 0,72$  і  $r = 0,77$  адпаведна). Гэта сведчыць пра адэкватнасць выкарыстаных у даследаванні гісталагічных вымярэнняў. Дадаткова аказалася, што чым менш адлегласць паміж валасянымі фалікуламі на франтальным зрэзе апечанага ўчастка, тым большай можа быць доля адслоенага на паверхні грануляцыйнай тканкі эпідэрміса ( $r = -0,66$ ;  $p = 0,0230$ ). Верагодна, дадзены феномен можа быць патлумачаны кантракцыяй – чым яна інтэнсіўней (што вядзе да памяншэння шырыні зоны апёка), тым больш слабай можа быць сувязь паміж эпідэрмісам і падлеглай грануляцыйнай тканкай. Своеасаблівым дадатковым пацверджаннем адзначанага стала выяўленне таго, што чым менш шырыня апечанай зоны, тым, як правіла, больш мітозаў керацінацытаў у эпідэрмісе на паверхні грануляцыйнай тканкі ( $r = -0,65$ ;  $p = 0,0226$ ). Найбольш праўдападобным тут, верагодна, будзе аналагічнае тлумачэнне: чым большыя тэмпы кантракцыі ў вобласці апёка, тым больш актыўна мусіць перабудоўвацца эпідэрміс, адаптуючыся да ўсё новых умоў на паверхні грануляцыйнай тканкі, у тым ліку і праз большую праліферацыю. Нарэшце апошняе: паміж таўшчынёй эпідэрміса ў цэнтры апечанай зоны і іншымі колькаснымі параметрамі, якія характэрызавалі апошнюю, не было выяўлена ніякіх надзейных сувязей.

**Заклучэнне.** У выніку праведзенага даследавання на дзвюх мадэлях апёка скуры 3Б ступені лабараторных пацукоў атрымана пацверджанне, што выдаленне некратычных тканак з ранавай паверхні спрыяе хутчэйшаму загойванню тэрмічнага пашкоджання. Даставерных доказаў таго, што КВ ці КВЦД могуць істотна паскараць эпідэрмізацыю апёкавай раны, ні на адной з мадэляў не атрымана. Аднак пад уплывам КВ у першай мадэлі аказалася істотна меншай плошча другаснага струпа, прысутнага на ранавай паверхні на 14-я суткі пасля пашкоджання, а ў другой – пад уплывам КВ і КВЦД істотна павялічваліся тэмпы эпідэрмізацыі раны на заключным яе этапе. Акрамя таго, быў выяўлены пазітыўны уплыў КВ і асабліва КВЦД на вяртанне да нормы лейкоцитарнай формулы крыві, актывізацыю фагацитарнай і метабалічнай актывінасці нейтрафілаў у крыві і на паверхні раны. Апошняе сведчыць аб магчымасці распрацоўкі новага імунамадулюючага прэпарата для мясцовага выкарыстання.

Неадназначнасць атрыманых вынікаў адносна ўплыву КВ і КВЦД на апёкавую рану можа быць абумоўлена не столькі слабым раназагойвальным патэнцыялам дадзеных рэчываў, колькі

прысутнасцю на ранавай паверхні некратычных тканак і струпа, а таксама дадатковай траўматызацыяй раны пры спробах іх выдалення. Гэта дазваляе меркаваць, што даследаванне ўплыву КВ ці КВЦД на працэс загойвання скурных ран варта прадоўжыць на такіх лабараторных мадэлях, дзе будзе мінімізавана прысутнасць некратычных тканак на ранавай паверхні і дзе апошняя не будзе дадаткова траўматызавацца шляхам іх механічнага выдалення.

**Канфлікт інтарэсаў.** Аўтары заяўляюць аб адсутнасці канфлікту інтарэсаў.

**Падзякі.** Праца выканана ў межах праекта по заданню 2.13 «Распрацоўка нанаструктураваных лекавых прэпаратаў для вонкавага ўжывання» ДПНД «Фізічнае матэрыялазнаўства, новыя матэрыялы і тэхналогіі».

**Acknowledgements.** This work was performed as a part of the project 2.13 “Development of nanostructured drugs for external use” of SPSR “Physical materials science, new materials and technologies”.

### Спіс выкарыстаных крыніц

1. Местное консервативное лечение ран на этапах оказания помощи пострадавшим от ожогов : клин. рек. [Электронный ресурс] / А. А. Алексеев [и др.] // Общероссийская общественная организация «Объединение комбустиологов «Мир без ожогов». – Режим доступа : <http://combustiolog.ru/wp-content/uploads/2013/07/Mestnoe-konservativnoe-lechenie-postradavshih-ot-ozhogov.pdf>. – Дата доступа : 02.03.2019.
2. Investigation of properties and structural characterization of the quercetin inclusion complex with (2-hydroxypropyl)- $\beta$ -cyclodextrin / I. M. Savić [et al.] // *J. Incl. Phenom. Macrocycl. Chem.* – 2015. – Vol. 82, N 3–4. – P. 383–394. <https://doi.org/10.1007/s10847-015-0500-4>
3. Quercetin accelerated cutaneous wounds healing in rats by increasing levels of VEGF and TGF- $\beta$ 1 / A. Gopalakrishan [et al.] // *Indian J. Exp. Biol.* – 2016. – Vol. 54, N 3. – P. 187–195.
4. Quercetin and low level laser therapy promote wound healing process in diabetic rats via structural reorganization and modulatory effects on inflammation and oxidative stress / O. M. Ahmed [et al.] // *Biomed. Pharmacother.* – 2018. – N 101. – P. 58–73. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2018.02.040>
5. Fabrication of quercetin and curcumin bionanovesicles for the prevention and rapid regeneration of full-thickness skin defects on mice / I. Castangia [et al.] // *Acta Biomater.* – 2014. – Vol. 10, N 3. – P. 1292–1300. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2013.11.005>
6. Wound healing effect of ethanolic extract from Morning Glory (*Ipomoea carnea* Jacq.) leaves by using different models in rats / R. Shukla [et al.] // *Pak. J. Pharm. Sci.* – 2018. – Vol. 31, N 4. – P. 1355–1361.
7. Quercetin and its natural sources in wound healing management / N. Polera [et al.] // *Curr. Med. Chem.* – 2018. – Vol. 25. – P. 3. <https://doi.org/10.2174/0929867325666180713150626>
8. *In vitro* and *in vivo* characterization of quercetin loaded multiphase hydrogel for wound healing application / R. Jangde [et al.] // *Int. J. Biol. Macromol.* – 2018. – Vol. 115. – P. 1211–1217. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.05.010>
9. Ameliorative effect of nanoencapsulated flavonoid against chlorpyrifos-induced hepatic oxidative damage and immunotoxicity in Wistar rats / S. G. Suke [et al.] // *J. Biochem. Mol. Toxicol.* – 2018. – Vol. 32, N 5. – P. e22050. <https://doi.org/10.1002/jbt.22050>
10. Protective effect of quercetin in LPS-induced murine acute lung injury mediated by cAMP-Epac pathway / X. F. Wang [et al.] // *Inflammation.* – 2018. – Vol. 41, N 3. – P. 1093–1103. <https://doi.org/10.1007/s10753-018-0761-3>
11. Formulation optimization and in situ absorption in rat intestinal tract of quercetin-loaded microemulsion / Y. Gao [et al.] // *Colloids. Surf. B: Biointerfaces.* – 2009. – Vol. 71, N 2. – P. 306–314. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2009.03.005>
12. *In vitro* and *in vivo* anticancer efficacy potential of Quercetin loaded polymeric nanoparticles / R. Baksi [et al.] // *Biomed. Pharmacother.* – 2018. – Vol. 106. – P. 1513–1526. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2018.07.106>
13. Квантово-химическое моделирование электронной структуры кверцетина и ингибирование кверцетином и комплексом кверцетин-гидроксипропин- $\beta$ -циклодекстрин перекисного окисления липидов в митохондриях и эритроцитах крыс / А. Г. Вейко [и др.] // *Вес. НАН Беларусі. Сер. біял. навук.* – 2018. – Т. 63, № 4. – С. 500–512.
14. Current concepts in debridement: science and strategies / E. L. Anghel [et al.] // *Plast Reconstr. Surg.* – 2016. – Vol. 138. – P. 82S–93S. <https://doi.org/10.1097/PRS.0000000000002651>
15. Tiwari, V. K. Burn wound: How it differs from other wounds? / V. K. Tiwari // *Indian J. Plast. Surg.* – 2012. – Vol. 45, N 2. – P. 364–373. <https://doi.org/10.4103/0970-0358.101319>
16. Новиков, Д. К. Оценка иммунного статуса / Д. К. Новиков, В. И. Новикова. – Витебск : Витеб. мед. ин-т, 1996. – 282 с.
17. Новикова, И. А. Метод комплексной оценки вне- и внутриклеточных факторов бактерицидности нейтрофилов / И. А. Новикова, В. В. Железко. – Гомель : ГомГМУ, 2014. – 7 с.
18. Новиков, Д. К. Клиническая иммунопатология / Д. К. Новиков, П. Д. Новиков. – М. : Мед. лит., 2009. – 448 с.
19. Myofibroblast-mediated contraction / W. M. Kattan [et al.] // *J. Coll. Physicians. Surg. Pak.* – 2017. – Vol. 27, N 1. – P. 38–43.
20. Involvement of eIF6 in external mechanical stretch-mediated murine dermal fibroblast function via TGF- $\beta$ 1 pathway / Q. Shu [et al.] // *Sci. Reports.* – 2016. – Vol. 6, N 1. – Art. 36075. <https://doi.org/10.1038/srep36075>

## References

1. Alekseev A. A., Bobrovnikov A. E., Krutikov M. G., Tyurnikov Yu. I., Bogdanov S. B. Local conservative treatment of wounds at the stages of care for burn victims: clinical recommendations. *All-Russian public organization Association of Combustionologists "A world without burns"*. Available at: <http://combustionlog.ru/wp-content/uploads/2013/07/Mestnoe-konservativnoe-lechenie-postradavshih-ot-ozhogov.pdf> (accessed 02.03.2019) (in Russian).
2. Savic I. M., Nikolic D. V., Savic-Gajic I., Nikolic L. B., Radovanovic C. B., Mladenovic J. D. Investigation of properties and structural characterization of the quercetin inclusion complex with (2-hydroxypropyl)- $\beta$ -cyclodextrin. *Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry*, 2015, vol. 82, no. 3–4, pp. 383–394. <https://doi.org/10.1007/s10847-015-0500-4>
3. Gopalakrishan A., Ram M., Kumawat S., Tandan S., Kumar D. Quercetin accelerated cutaneous wounds healing in rats by increasing levels of VEGF and TGF- $\beta$ 1. *Indian Journal of Experimental Biology*, 2016, vol. 54, no. 3, pp. 187–195.
4. Ahmed O. M., Mohamed T., Moustafa H., Hamdy H., Ahmed R. R., Aboud E. Quercetin and low level laser therapy promote wound healing process in diabetic rats via structural reorganization and modulatory effects on inflammation and oxidative stress. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 2018, no. 101, pp. 58–73. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2018.02.040>
5. Castangia I., Nácher A., Caddeo C., Valenti D., Fadda A. M., Díez-Sales O., Ruiz-Sauri A., Manconi M. Fabrication of quercetin and curcumin bionanovesicles for the prevention and rapid regeneration of full-thickness skin defects on mice. *Acta Biomaterialia*, 2014, vol. 10, no. 3, pp. 1292–1300. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2013.11.005>
6. Shukla R., Gupta G., Kashaw S. K., Jain A. P., Lodhi S. Wound healing effect of ethanolic extract from Morning Glory (*Ipomoea carnea* Jacq.) leaves by using different models in rats. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2018, vol. 31, no. 4, pp. 1355–1361.
7. Polera N., Badolato M., Perri F., Carullo G., Aiello F. Quercetin and its natural sources in wound healing management. *Current Medicinal Chemistry*, 2018, vol. 25, p. 3. <https://doi.org/10.2174/0929867325666180713150626>
8. Jangde R., Srivastava S., Singh M. R., Singh D. *In vitro* and *in vivo* characterization of quercetin loaded multiphase hydrogel for wound healing application. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2018, vol. 115, pp. 1211–1217. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.05.010>
9. Suke S. G., Sherekar P., Kahale V., Patil S., Mundhada D., Nanoti V. M. Ameliorative effect of nanoencapsulated flavonoid against chlorpyrifos-induced hepatic oxidative damage and immunotoxicity in Wistar rats. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*, 2018, vol. 32, no. 5, p. e22050. <https://doi.org/10.1002/jbt.22050>
10. Wang X.-F., Song S., Li Y.-J., Hu Z. Q., Zhang Z.-W., Yan C.-G., Li Z.-G., Tang H.-F. Protective effect of quercetin in LPS-induced murine acute lung injury mediated by cAMP-Epac. pathway. *Inflammation*, 2018, vol. 41, no. 3, pp. 1093–1103. <https://doi.org/10.1007/s10753-018-0761-3>
11. Gao Y., Wang Y., Ma Y., Yu A., Cai F., Shao W., Zhai G. Formulation optimization and in situ absorption in rat intestinal tract of quercetin-loaded microemulsion. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 2009, vol. 71, no. 2, pp. 306–314. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2009.03.005>
12. Baksi R., Singh D. P., Borse S. P., Rana R., Sharma V., Nivsarkar M. *In vitro* and *in vivo* anticancer efficacy potential of quercetin loaded polymeric nanoparticles. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 2018, vol. 106, pp. 1531–1526. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2018.07.106>
13. Veiko A. G., Il'ich T. V., Lapshina E. A., Buko V. U., Zavodnik I. B. Quantum-chemical modeling of the electronic structure of quercetin and inhibition by quercetin and quercetin–hydroxypropyl- $\beta$ -cyclodextrin complex of lipid peroxidation in mitochondria and red blood cells of rats. *Vesti Natsyynal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya biyalagichnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2018, vol. 63, no. 4, pp. 500–512 (in Russian).
14. Anghel E. L., DeFazio M. V., Barker J. C., Janis J. E., Attinger C. E. Current concepts in debridement: science and strategies. *Plastic and Reconstructive Surgery*, 2016, vol. 138, pp. 82S–93S. <https://doi.org/10.1097/PRS.0000000000002651>
15. Tiwari V. K. Burn wound: How it differs from other wounds. *Indian Journal of Plastic Surgery*, 2012, vol. 45, no. 2, pp. 364–373. <https://doi.org/10.4103/0970-0358.101319>
16. Novikov D. K., Novikova V. I. *Evaluation of the immune status*. Vitebsk, Vitebsk Medical Institute Publ., 1996. 282 p. (in Russian).
17. Novikova I. A., Zhelezko V. V. *Method of integrated assessment of extra-and intracellular factors of bactericidal neutrophils*. Gomel, Gomel State Medical University Publ., 2014. 7 p. (in Russian).
18. Novikov D. K., Novikov P. D. *Clinical immunopathology*. Moscow, Meditsinskaya literatura Publ., 2009. 448 p. (in Russian).
19. Kattan W. M., Alarfaj S. F., Alnooh B. M., Alsaif H. F., Alabdul Karim H., Al-Qattan N. M., Al-Qattan M. M., El-Sayed A. A. Myofibroblast-mediated contraction. *Journal of the College of Physicians and Surgeons – Pakistan*, 2017, vol. 27, no. 1, pp. 38–43.
20. Shu Q., Tan J., Ulrike van D., Zhang X., Yang J., Yang S., Hu X., He W., Luo G., Wu J. Involvement of eIF6 in external mechanical stretch-mediated murine dermal fibroblast function via TGF- $\beta$ 1 pathway. *Scientific Reports*, 2016, vol. 6, no. 1, art. 36075. <https://doi.org/10.1038/srep36075>

## Информация об авторах

*Бакунувіч Аляксей Аляксеевіч* – мл. науч. сотрудник. Институт биохимии биологически активных соединений НАН Беларуси (БЛК, 50, 230030, г. Гродно, Республика Беларусь). E-mail: baptist.alexei@mail.ru

*Астровский Александр Александрович* – д-р мед. наук, профессор, вед. науч. сотрудник. Институт биохимии биологически активных соединений НАН Беларуси (БЛК, 50, 230030, г. Гродно, Республика Беларусь). E-mail: astrowski@gmail.com

*Шляхтун Алексей Генрихович* – науч. сотрудник, заведующий отделом. Институт биохимии биологически активных соединений НАН Беларуси (БЛК, 50, 230030, г. Гродно, Республика Беларусь). E-mail: shlyahuntun@ibiochemistry.by

*Мороз Валентина Леопольдовна* – науч. сотрудник. Институт биохимии биологически активных соединений НАН Беларуси (БЛК, 50, 230030, г. Гродно, Республика Беларусь). E-mail: valmor655@gmail.com

*Астровская Оксана Борисовна* – канд. биол. наук, ст. науч. сотрудник. Гродненский государственный медицинский университет (ул. Горького, 80, 230009, г. Гродно, Республика Беларусь). E-mail: astrowskaja@gmail.com

*Меламед Владимир Дмитриевич* – канд. мед. наук, доцент. Гродненский государственный медицинский университет (ул. Горького, 80, 230009, г. Гродно, Республика Беларусь). E-mail: alllotransplan@mail.ru

*Буко Вячеслав Ульянович* – д-р биол. наук, профессор, заведующий отделом. Институт биохимии биологически активных соединений НАН Беларуси (БЛК, 50, 230030, г. Гродно, Республика Беларусь). E-mail: buko@bioch.busnet.by

## Information about the authors

*Aliaksei A. Bakunovich* – Junior researcher. Institute of Biochemistry of Biologically Active Compounds of the National Academy of Sciences of Belarus (50, BLK, 230030, Grodno, Republic of Belarus). E-mail: baptist.alexei@mail.ru

*Alexander A. Astrowski* – D. Sc. (Med.), Professor, Leading researcher. Institute of Biochemistry of Biologically Active Compounds of the National Academy of Sciences of Belarus (50, BLK, 230030, Grodno, Republic of Belarus). E-mail: astrowski@gmail.com

*Alexej H. Shlyahuntun* – Researcher, Head of the Department. Institute of Biochemistry of Biologically Active Compounds of the National Academy of Sciences of Belarus (50, BLK, 230030, Grodno, Republic of Belarus). E-mail: shlyahuntun@ibiochemistry.by

*Valiantsina L. Maroz* – Researcher. Institute of Biochemistry of Biologically Active Compounds of the National Academy of Sciences of Belarus (50, BLK, 230030, Grodno, Republic of Belarus). E-mail: valmor655@gmail.com

*Aksana B. Astrovskaja* – Ph. D. (Biol.), Senior researcher. Grodno State Medical University (80, Gorky Str., 230009, Grodno, Republic of Belarus). E-mail: astrowskaja@gmail.com

*Vladimir D. Melamed* – Ph. D. (Med.), Assistant Professor. Grodno State Medical University (80, Gorky Str., 230009, Grodno, Republic of Belarus). E-mail: alllotransplan@mail.ru

*Vyacheslav U. Buko* – D. Sc. (Biol.), Professor, Head of the Department. Institute of Biochemistry of Biologically Active Compounds of the National Academy of Sciences of Belarus (50, BLK, 230030, Grodno, Republic of Belarus). E-mail: buko@bioch.busnet.by

ISSN 1814-6023 (Print)

ISSN 2524-2350 (Online)

УДК 616.127-005.4-092.4:612.8.04:616-092

<https://doi.org/10.29235/1814-6023-2019-16-4-424-433>

Поступила в редакцию 08.07.2019

Received 08.07.2019

**Ф. И. Висмонт, С. Н. Чепелев, П. Ф. Юшкевич**

*Белорусский государственный медицинский университет, Минск, Республика Беларусь*

## **ПЕРИФЕРИЧЕСКИЕ М-ХОЛИНОРЕАКТИВНЫЕ СИСТЕМЫ В РЕАЛИЗАЦИИ ИНФАРКТ-ЛИМИТИРУЮЩЕГО ЭФФЕКТА ДИСТАНТНОГО ИШЕМИЧЕСКОГО ПОСТКОНДИЦИОНИРОВАНИЯ ПРИ ИШЕМИИ-РЕПЕРФУЗИИ МИОКАРДА В ЭКСПЕРИМЕНТЕ**

**Аннотация.** Поиск новых эффективных методов предотвращения или ослабления ишемического повреждения миокарда и механизмов их реализации является актуальной задачей современной экспериментальной и клинической медицины. Целью исследования было определение значимости периферических М-холинореактивных систем в реализации кардиопротекторных эффектов дистантного ишемического посткондиционирования (ДИПостК) при ишемии-реперфузии миокарда в эксперименте. В ходе исследования выявлено, что ДИПостК оказывает инфаркт-лимитирующий эффект при ишемии-реперфузии миокарда как у молодых, так и у старых крыс, однако в условиях системного действия атропина (2 мг/кг) данный эффект сохраняется только у старых крыс. По-видимому, активность периферических М-холинореактивных систем играет существенную роль в механизмах реализации кардиопротекторных эффектов ДИПостК у молодых, но не у старых крыс.

**Ключевые слова:** дистантное ишемическое посткондиционирование, старые крысы, инфаркт-лимитирующий эффект, зона риска, зона некроза

**Для цитирования:** Висмонт, Ф. И. Периферические М-холинореактивные системы в реализации инфаркт-лимитирующего эффекта дистантного ишемического посткондиционирования при ишемии-реперфузии миокарда в эксперименте / Ф. И. Висмонт, С. Н. Чепелев, П. Ф. Юшкевич // Вестн. Нац. акад. наук Беларуси. Сер. мед. наук. – 2019. – Т. 16, № 4. – С. 424–433. <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2019-16-4-424-433>

**F. I. Vismont, S. N. Chepelev, P. F. Jushkevich**

*Belarusian State Medical University, Minsk, Republic of Belarus*

## **PERIPHERAL M-CHOLINE-REACTIVE SYSTEMS IN THE INFARCT-LIMITED EFFECT IMPLEMENTATION OF REMOTE ISCHEMIC POSTCONDITIONING DURING ISCHEMIA-REPERFUSION OF MYOCARDIUM IN EXPERIMENT**

**Abstract.** The search for new effective methods to prevent or mitigate ischemic myocardial damage and the mechanisms for their realization is an important task of modern experimental and clinical medicine. The aim of the study was to elucidate the significance of peripheral M-choline-reactive systems in the realization of the cardioprotective effects of remote ischemic postconditioning (RIPostC) during ischemia-reperfusion of myocardium in experiment. The study revealed that RIPostC has an infarct-limiting effect during ischemia-reperfusion of myocardium in young and old rats, but under the conditions of systemic action of atropine (2 mg/kg), the infarct-limiting effect of RIPostC remained only in old rats. It seems that the activity of peripheral M-choline-reactive systems is important in the mechanisms of realization of the cardioprotective effects of RIPost in young, but not in old rats.

**Keywords:** remote ischemic postconditioning, old rats, infarct size-limiting effect, area at risk, area at necrosis

**For citation:** Vismont F. I., Chepelev S. N., Jushkevich P. F. Peripheral M-choline-reactive systems in the infarct-limited effect implementation of remote ischemic postconditioning during ischemia-reperfusion of myocardium in experiment. *Vestsi Natsyonal'noi akademii navuk Belarusi. Seriya meditsinskikh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2019, vol. 16, no. 4, pp. 424–433 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2019-16-4-424-433>

**Введение.** В настоящее время ишемическая болезнь сердца (ИБС) является важнейшей причиной смертности в развитых странах мира и в Республике Беларусь в частности [1]. Учитывая большую частоту инвалидизации и сложность реабилитации пациентов с инфарктом миокарда, ИБС представляет собой не только значимую медицинскую, но и важную государственную проблему. В связи с этим поиск новых эффективных методов предотвращения или ослабления ишемического повреждения миокарда остается актуальной задачей современной экспериментальной и клинической медицины [2–4].

В последние годы объектом повышенного интереса ведущих ученых в области экспериментальной и клинической кардиологии являются кардиопротекторные (противоишемический и антиаритмический) эффекты дистантного ишемического пре- (ДИПК) и посткондиционирования (ДИПостК), которые воспроизводятся ишемией конечностей, осуществляемой до и после острой ишемии миокарда (ОИМ) соответственно [5–9].

Важнейшее преимущество ДИПостК перед локальным, облегчающим его внедрение в клиническую практику, состоит в его малой инвазивности, технической простоте и оказании эффекта, сопоставимого с эффектом локального посткондиционирования [4, 5, 7]. Более того, для эффективного применения любого варианта прекодиционирования (локального или дистантного) как меры профилактической кардиопротекции необходимо точно знать, когда наступит ишемия, требующая защиты миокарда, что практически невозможно. По этой причине мощный кардиопротекторный потенциал прекодиционирования остается по большей части клинически неиспользованным. А это означает, что ишемическое посткондиционирование, особенно дистантное, имеет несомненное преимущество перед различными вариантами прекодиционирования, так как может быть использовано после наступления продолжительной ишемии миокарда, в то время как попытка реализовать прекодиционирование в прединфарктный период осложняется непредсказуемостью времени развития инфаркта [4, 5, 7].

В клинической практике необходимость защиты миокарда от ишемического и реперфузионного повреждения чаще всего возникает у пациентов с различными факторами риска сердечно-сосудистых заболеваний, к числу которых относится и возраст. В то же время имеющиеся сведения о противоишемической и антиаритмической эффективности ДИПостК в условиях наличия такого сопутствующего фактора риска сердечно-сосудистых заболеваний, как возраст, многочисленны и весьма противоречивы [5, 7, 8, 10–12].

Так, результаты ряда экспериментальных исследований указывают на то, что возраст животных является фактором, препятствующим воспроизведению противоишемического и антиаритмического эффектов ДИПК и ДИПостК [8, 10–12]. В то же время имеются сообщения о противоишемической эффективности ДИПостК у старых животных [7, 13, 14]. Причины такого расхождения результатов исследования до сих пор не выяснены.

Предполагается, что возрастные изменения органов и тканей могут оказывать существенное влияние на кардиопротекторную эффективность ДИПостК у старых крыс.

Известно, что процессы старения организма сопровождаются ослаблением влияния парасимпатической регуляции на сердце, что связано с деструкцией холинергических нервных окончаний, снижением интенсивности процессов синтеза ацетилхолина и числа М-холинорецепторов в миокарде [15, 16].

На сегодняшний день накоплено большое количество сведений, подчеркивающих важную роль парасимпатической регуляции сердечной деятельности в механизмах защиты миокарда от повреждений [17–20]. В частности, согласно современным представлениям, парасимпатическая регуляция сердечной деятельности имеет важное значение в механизмах защиты миокарда от ишемического и реперфузионного повреждений [21–23].

Принимая во внимание тот факт, что в организме старых животных происходят значительные морфофункциональные и биохимические изменения [15–17], есть основания полагать, что возрастные изменения органов и тканей и, в частности, изменения в них активности периферических М-холинореактивных систем могут оказывать существенное влияние на кардиопротекторную эффективность ДИПостК у старых крыс.

В то же время вопрос о значимости периферических М-холинореактивных систем в реализации кардиопротекторных эффектов ДИПостК у старых животных до сих пор не изучен.

Цель исследования – определить значимость периферических М-холинореактивных систем в реализации кардиопротекторных эффектов дистантного посткондиционирования при ишемии-реперфузии миокарда в эксперименте.

**Материалы и методы исследования.** Исследование эффективности ДИПостК выполнено на 42 наркотизированных нелинейных белых крысах-самцах, разделенных на две возрастные группы, включавшие 21 молодую (молод) крысу массой  $220 \pm 20$  г в возрасте  $4 \pm 1$  мес. и 21 старую (стар)

крысу массой 400–450 г в возрасте  $24 \pm 1$  мес. Все животные были разделены на 6 групп: Контроль<sub>молод</sub> ( $n = 7$ ), Контроль<sub>стар</sub> ( $n = 7$ ), ДИПостК<sub>молод</sub> ( $n = 7$ ), Атропин + ДИПостК<sub>молод</sub> ( $n = 7$ ), ДИПостК<sub>стар</sub> ( $n = 7$ ), Атропин + ДИПостК<sub>стар</sub> ( $n = 7$ ). Эксперименты выполняли в соответствии с этическими нормами обращения с лабораторными животными, а также требованиями Директивы Европейского этического комитета 86/609/ЕЕС от 24.11.1986 [24], Европейской конвенции от 18.03.1986 г. «О защите позвоночных животных, используемых в экспериментальных и других научных целях» и ТКП 125-2008 «Надлежащая лабораторная практика», утвержденным постановлением Министерства здравоохранения Республики Беларусь № 56 от 28.03.2008 [25].

Животные содержались в условиях вивария УО «Белорусский государственный медицинский университет» в соответствии с нормативами индивидуального размещения [26]. Световой режим соответствовал естественному уровню освещенности в течение суток. Температура воздуха в виварии поддерживалась на уровне 20–25 °С, что находится в пределах термонейтральной зоны для крыс. Относительная влажность воздуха составляла 50–70 %. Температуру и относительную влажность воздуха регистрировали ежедневно с помощью гигрометра психрометрического ВИТ-1. При выполнении работы особое внимание уделяли шумовому режиму содержания животных, так как высокий уровень шума способствует развитию стресса у крыс. Рацион животных состоял из комбикорма КК-92/ПХЧ-5, количество которого определялось нормами кормления лабораторных животных [27]. Питьевой режим соответствовал принципу *ad libitum*. Все манипуляции с животными проводили в течение дня с 8.00 до 18.00. Формирование экспериментальных групп животных осуществляли методом случайной выборки.

Острую коронарную недостаточность у крыс воспроизводили по методике, описанной С. Clark с соавт. [28]. Для наркотизации животных использовали тиопентал натрия в дозе 50 мг/кг внутривенно с последующей внутривенной инфузией поддерживающей дозы 10 мг/кг/ч. Крыс переводили на искусственное дыхание атмосферным воздухом при помощи аппарата искусственной вентиляции легких с частотой дыхания 56–60 в минуту. Наличие проходимости дыхательных путей контролировали по давлению в трахее, нормальным значением которого на вдохе считалось 10–15 мм рт. ст. Температуру тела измеряли в прямой кишке с помощью электротермометра Harvard (Великобритания) и поддерживали электрогрелкой на уровне  $37,0 \pm 0,5$  °С. Грудную клетку наркотизированного животного вскрывали в четвертом межреберном промежутке слева. После периода 15-минутной стабилизации гемодинамики крысам выполняли 30-минутную окклюзию левой коронарной артерии (ЛКА) путем механического ее пережатия при помощи фишки. Согласно современным экспериментальным данным, считается, что длительность коронарной окклюзии у крыс, равная 30–40 мин, является достаточной для формирования зоны некроза миокарда, составляющей около 50 % от зоны риска [5]. Окклюзия артерии подтверждалась цианозом ишемизированной области, снижением артериального давления (АД) на 10–20 мм рт. ст. и подъемом сегмента ST на электрокардиографии (ЭКГ). Реперфузия миокарда достигалась путем удаления фишки и подтверждалась исчезновением цианоза и возвращением сегмента ST к изолинии. Длительность реперфузии составляла 120 мин, поскольку, согласно имеющимся литературным данным, указанный интервал времени является достаточным для формирования в миокарде крыс зоны некроза [2, 4, 5].

ДИПостК выполняли в соответствии с протоколом исследования, представленным М. Basalay с соавт. [5], согласно которому животных опытных групп ДИПостК дополнительно подвергали воздействию 15-минутной окклюзии обеих бедренных артерий через 10 мин после 30-минутной ОИМ.

В ходе экспериментов непрерывно регистрировали ЭКГ во II стандартном отведении и системное АД. Полученные данные обрабатывали с помощью компьютерной программы Spike 4. Для определения АД крысам канюлировали правую общую сонную артерию. Изучали также следующие показатели гемодинамики: среднее АД ( $AD_{cp}$ ), частоту сердечных сокращений (ЧСС), двойное произведение (ДП).  $AD_{cp}$  рассчитывали как АД диастолическое + 1/3 (АД систолическое – АД диастолическое), ДП – как ЧСС·АД систолическое/100. Показатели гемодинамики регистрировали непрерывно в течение эксперимента и оценивали в конце 15-минутной стабили-

зации гемодинамики после вскрытия грудной клетки, в начале 30-минутной окклюзии ЛКА, в начале реперфузии, а также каждые 30 мин в течение реперфузии.

Зону риска выявляли путем введения в левую общую яремную вену 0,5 мл 5 %-ного раствора синьки Эванса (Sigma, США) в конце реперфузии. Для идентификации зоны риска в миокарде левого желудочка крыс использовали метод, основанный на определении активности дегидрогеназ [29]. Зону риска определяли как зону, не окрашенную в синий цвет. Затем сердце извлекали и отделяли левый желудочек. После замораживания в морозильной камере ( $-20^{\circ}\text{C}$  в течение 30 мин) левый желудочек разрезали на 6 поперечных срезов. Срезы взвешивали на торсионных весах и затем сканировали при помощи сканера Epson с обеих сторон.

При помощи компьютерной планиметрии с использованием программы Adobe Photoshop CC 2017 для каждого среза определяли отношение средней площади зоны риска к средней площади всего среза. Массу зоны риска для каждого отдельного среза вычисляли по формуле

$$m_{\text{риска}} = \frac{\bar{S}_{\text{риска}} m_{\text{среза}}}{\bar{S}_{\text{среза}}},$$

где  $m_{\text{риска}}$  – масса зоны риска в каждом срезе;  $\bar{S}_{\text{риска}}$  – средняя площадь зоны риска в каждом срезе;  $m_{\text{среза}}$  – масса всего среза;  $\bar{S}_{\text{среза}}$  – средняя площадь всего среза.

Для расчета общей зоны риска (в % от массы левого желудочка) использовали следующую формулу:

$$\text{Зона риска (\%)} = \frac{\sum m_{\text{риска}}}{m_{\text{ЛЖ}}} \cdot 100 \%,$$

где  $\sum m_{\text{риска}}$  – арифметическая сумма значений масс зон риска всех срезов левого желудочка;  $m_{\text{ЛЖ}}$  – масса левого желудочка.

После этого для идентификации зоны некроза срезы помещали в 1 %-ный раствор трифенилтетразолия хлорида на 15 мин при температуре  $37^{\circ}\text{C}$ . Жизнеспособный миокард (клетки, сохранившие дегидрогеназную активность) окрашивался в кирпично-красный цвет, а некротизированная ткань была белесой. После 24-часовой инкубации срезов в 10 %-ном растворе формалина срезы сканировали повторно для определения соотношения площадей зоны риска и зоны некроза. При помощи компьютерной планиметрии для каждого среза миокарда левого желудочка определяли отношение средней площади зоны некроза к средней площади всего среза. Массу зоны некроза для каждого отдельного среза вычисляли по формуле

$$m_{\text{некроза}} = \frac{\bar{S}_{\text{некроза}} m_{\text{среза}}}{\bar{S}_{\text{среза}}},$$

где  $m_{\text{некроза}}$  – масса зоны некроза в каждом срезе;  $\bar{S}_{\text{некроза}}$  – средняя площадь зоны некроза в каждом срезе;  $m_{\text{среза}}$  – масса всего среза;  $\bar{S}_{\text{среза}}$  – средняя площадь всего среза.

Для расчета общей зоны некроза (в % от массы зоны риска) в миокарде левого желудочка крыс использовали формулу

$$\text{Зона некроза (\%)} = \frac{\sum m_{\text{некроза}}}{\sum m_{\text{риска}}} \cdot 100 \%,$$

где  $\sum m_{\text{некроза}}$  – арифметическая сумма значений масс зон некроза всех срезов левого желудочка.

Для оценки антиаритмического эффекта ДИПостК подсчитывали общую длительность нарушений сердечного ритма во время 30-минутной острой коронарной окклюзии и 120-минутной реперфузии миокарда (длительность фибрилляции желудочков (ФЖ), пароксизмальной желудочковой тахикардии (ПЖТ), парной желудочковой экстрасистолии, желудочковой экстрасистолии по типу бигеминии). На основе полученных данных рассчитывали медиану (Me) и интерквар-

тильный размах (25-й; 75-й процентиля). При сравнении групп использовали критерий Краскала–Уоллиса и тест множественных сравнений Данна.

Критериями исключения животных из опытов являлись ЧСС до начала эксперимента менее 300 уд/мин и АД<sub>ср</sub> ниже 60 мм рт. ст.

Изучение кардиопротекторной эффективности ДИПостК при ишемии и реперфузии миокарда у старых и молодых крыс в условиях блокады М-холинореактивных систем проводилось у животных, которым за 10 мин до воспроизведения ДИПостК внутривенно вводили в левую общую яремную вену 0,2 %-ный раствор М-холиноблокатора атропина (Sigma, США) в дозе 2 мг/кг.

Полученные в исследовании результаты анализировали с использованием стандартных пакетов статистических программ Statistica 10.0 и GraphPad Prism. Для оценки нормальности распределения анализируемых показателей применяли критерий Колмогорова–Смирнова. Статистическую значимость различий полученных данных в случае их параметрического распределения оценивали с помощью однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA) с использованием тестов множественных сравнений Данна и Бонферрони. Результаты исследования при их параметрическом распределении представляли в виде среднего  $\pm$  стандартная ошибка среднего ( $M \pm m$ ). Для оценки статистической значимости различий данных в случае их непараметрического распределения использовали критерий Краскала–Уоллиса и тест множественных сравнений Данна. При непараметрическом распределении результаты исследования были представлены в виде медианы и интерквартильного размаха (25-й; 75-й процентиля). Для оценки статистической значимости различий качественных параметров применяли точный метод Фишера. Уровень  $p < 0,05$  рассматривали как статистически значимый.

**Результаты и их обсуждение.** Установлено, что в группах Контроль<sub>стар</sub>, ДИПостК<sub>стар</sub>, а также Контроль<sub>молод</sub>, ДИПостК<sub>молод</sub> статистически значимых отличий АД<sub>ср</sub> и ЧСС на протяжении эксперимента по сравнению с их исходными значениями не выявлено. В группах старых крыс, которым за 10 мин до воспроизведения ДИПостК осуществляли внутривенное введение М-холиноблокатора атропина в дозе 2 мг/кг (Атропин + ДИПостК<sub>стар</sub>), показатели АД<sub>ср</sub> и ЧСС на протяжении эксперимента статистически значимо не отличались от своих исходных значений. В группах молодых крыс, которым за 10 мин до воспроизведения ДИПостК осуществляли внутривенное введение блокатора периферических М-холинореактивных систем атропина в дозе 2 мг/кг (Атропин + ДИПостК<sub>молод</sub>), значимых отличий АД<sub>ср</sub> и ЧСС на протяжении эксперимента по сравнению с исходными значениями также не выявлено (см. таблицу).

#### Изменение показателей гемодинамики у старых и молодых крыс на протяжении эксперимента

##### Changes in hemodynamic parameters in old and young rats in experiment

Экспериментальная группа		Старые крысы			Молодые крысы		
		Контроль (n = 7)	ДИПостК (n = 7)	Атропин + ДИПостК (n = 7)	Контроль (n = 7)	ДИПостК (n = 7)	Атропин + ДИПостК (n = 7)
До начала ОИМ	АД <sub>ср</sub>	88 $\pm$ 10	97 $\pm$ 7	111 $\pm$ 9	86 $\pm$ 5	73 $\pm$ 3	84 $\pm$ 5
	ЧСС	462 $\pm$ 18	436 $\pm$ 24	410 $\pm$ 25	417 $\pm$ 9	410 $\pm$ 16	427 $\pm$ 19
Начало ОИМ	АД <sub>ср</sub>	64 $\pm$ 4	77 $\pm$ 6	92 $\pm$ 9	77 $\pm$ 8	74 $\pm$ 4	82 $\pm$ 6
	ЧСС	408 $\pm$ 48	458 $\pm$ 10	365 $\pm$ 7	439 $\pm$ 6	429 $\pm$ 14	445 $\pm$ 21
Начало реперфузии	АД <sub>ср</sub>	72 $\pm$ 6	87 $\pm$ 6	91 $\pm$ 10	74 $\pm$ 2	74 $\pm$ 4	73 $\pm$ 5
	ЧСС	410 $\pm$ 46	476 $\pm$ 16	345 $\pm$ 13	413 $\pm$ 16	410 $\pm$ 23	407 $\pm$ 21
30' реперфузии	АД <sub>ср</sub>	69 $\pm$ 3	84 $\pm$ 4	91 $\pm$ 9	74 $\pm$ 4	75 $\pm$ 4	75 $\pm$ 5
	ЧСС	403 $\pm$ 50	473 $\pm$ 7	328 $\pm$ 13	411 $\pm$ 12	404 $\pm$ 22	417 $\pm$ 19
60' реперфузии	АД <sub>ср</sub>	74 $\pm$ 5	84 $\pm$ 6	93 $\pm$ 8	73 $\pm$ 4	78 $\pm$ 4	75 $\pm$ 4
	ЧСС	403 $\pm$ 43	464 $\pm$ 14	333 $\pm$ 17	413 $\pm$ 15	410 $\pm$ 22	405 $\pm$ 25
90' реперфузии	АД <sub>ср</sub>	79 $\pm$ 7	83 $\pm$ 5	95 $\pm$ 6	78 $\pm$ 3	77 $\pm$ 4	78 $\pm$ 5
	ЧСС	411 $\pm$ 42	461 $\pm$ 10	328 $\pm$ 15	433 $\pm$ 14	396 $\pm$ 19	420 $\pm$ 17
120' реперфузии	АД <sub>ср</sub>	76 $\pm$ 6	82 $\pm$ 5	95 $\pm$ 6	82 $\pm$ 5	85 $\pm$ 3	80 $\pm$ 4
	ЧСС	388 $\pm$ 42	471 $\pm$ 13	315 $\pm$ 16*	436 $\pm$ 20	426 $\pm$ 16	433 $\pm$ 14

\*  $p < 0,05$  – статистически значимые различия ЧСС по сравнению с исходными значениями.

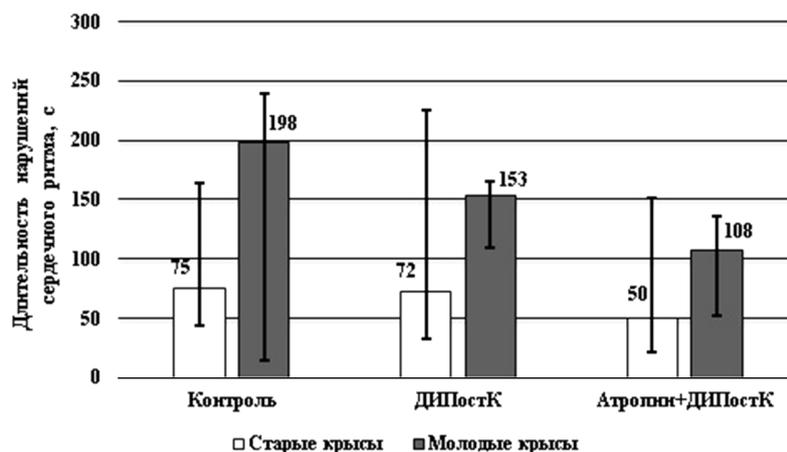


Рис. 1. Длительность нарушений сердечного ритма во время 30-минутной ишемии и 120-минутной реперфузии миокарда у старых и молодых крыс

Fig. 1. The duration of heart rhythm disturbances during 30-minute ischemia and 120-minute myocardial reperfusion in old and young rats

При проведении исследования установлено, что значения ДП в анализируемых группах старых и молодых крыс до начала острой коронарной окклюзии статистически значимо не различались. Кроме того, на протяжении эксперимента во всех экспериментальных группах старых и молодых крыс отличий ДП от своих исходных значений также не выявлено ( $p > 0,05$ ). Следовательно, есть основания полагать, что потребность миокарда в кислороде у старых и молодых животных всех анализируемых групп до начала эксперимента была сходной. На протяжении исследования потребность миокарда в кислороде у старых и молодых крыс экспериментальных групп также не изменялась.

При изучении антиаритмической эффективности ДИПостК при ишемии-реперфузии миокарда у старых крыс в условиях системного действия в организме животных блокатора М-холинореактивных систем атропина (2 мг/кг) установлено, что длительность ишемических нарушений сердечного ритма в группе Контроль<sub>стар</sub> составила 75 (44; 164) с, в группе ДИПостК<sub>стар</sub> – 72 (33; 226), в группе Атропин + ДИПостК<sub>стар</sub> – 50 (22; 151) с. Во время 30-минутной ишемии и 120-минутной реперфузии миокарда у молодых крыс имели место нарушения сердечного ритма продолжительностью 198 (14; 239) с в группе Контроль<sub>молод</sub>, 153 (109; 166) с в группе ДИПостК<sub>молод</sub>, 108 (52; 136) с в группе Атропин + ДИПостК<sub>молод</sub> (рис. 1).

В ходе исследования также установлено, что у старых крыс во время острой ишемии миокарда в группе Контроль<sub>стар</sub> у 4 из 7 крыс отмечалась ФЖ, а у 6 животных данной группы была выявлена ПЖТ. Реперфузионные нарушения сердечного ритма имели место у 6 крыс группы Контроль<sub>стар</sub>. В группе ДИПостК<sub>стар</sub> в период острой коронарной окклюзии у 3 из 7 крыс отмечалась ФЖ ( $p > 0,05$ ), а ПЖТ имела место у 4 крыс ( $p > 0,05$ ). Во время реперфузии миокарда нарушения сердечного ритма наблюдались у 5 животных группы ДИПостК<sub>стар</sub> ( $p > 0,05$ ). В группе Атропин + ДИПостК<sub>стар</sub> в период 30-минутной ишемии миокарда ФЖ была выявлена у 3 из 7 животных ( $p > 0,05$ ), в то время как ПЖТ отмечалась у 5 крыс ( $p > 0,05$ ). Реперфузионные аритмии имели место у всех животных группы Атропин + ДИПостК<sub>стар</sub> ( $p > 0,05$ ).

Таким образом, у старых крыс длительность ишемических нарушений сердечного ритма в группах ДИПостК<sub>стар</sub> и Атропин + ДИПостК<sub>стар</sub> сопоставима с таковой в группе Контроль<sub>стар</sub>, что вполне объяснимо, учитывая то, что ДИПостК и введение животным на 1-й минуте реперфузии атропина (2 мг/кг) не могли оказывать влияния на выраженность нарушений сердечного ритма во время 30-минутной ишемии миокарда.

У молодых крыс длительность нарушений сердечного ритма во время острой ишемии миокарда в группах ДИПостК<sub>молод</sub> и Атропин + ДИПостК<sub>молод</sub> статистически значимо не отличалась от таковой в группе Контроль<sub>молод</sub>.

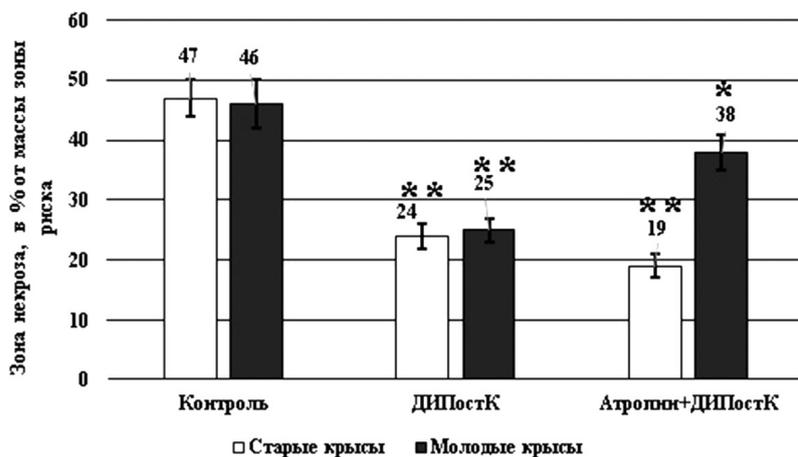


Рис. 2. Размеры зоны некроза в миокарде левого желудочка у старых и молодых крыс. Статистически значимые отличия размеров зоны некроза в группах ДИПостК и Атропин + ДИПостК по сравнению с соответствующими группами Контроль: \* –  $p < 0,05$  у молодых крыс, \*\* –  $p < 0,01$  у старых крыс

Fig. 2. Necrosis area sizes in the left ventricular of myocardium in old and young rats. Statistically significant differences in the size of the necrosis zone in the groups RIPost and Atropine + RIPost compared with the corresponding groups Control: \* –  $p < 0,05$  in young rats, \*\* –  $p < 0,01$  in old rats

В анализируемых группах старых и молодых крыс отмечались сопоставимые размеры зоны некроза в миокарде левого желудочка ( $p > 0,05$ ).

При изучении противоишемической эффективности ДИПостК при ишемии и реперфузии миокарда у старых крыс в условиях системного действия в организме животных блокатора М-холинореактивных систем атропина установлено, что размер зоны некроза в миокарде левого желудочка в группе Контроль<sub>стар</sub> составил  $47 \pm 3\%$ , в группе ДИПостК<sub>стар</sub> –  $24 \pm 2\%$  ( $p < 0,01$ ), в группе Атропин + ДИПостК<sub>стар</sub> –  $19 \pm 2\%$  ( $p < 0,01$ ) (рис. 2).

Результаты исследования свидетельствуют о том, что у старых крыс после воспроизведения ДИПостК, а также после внутривенного введения животным атропина, которое осуществлялось за 10 мин до выполнения ДИПостК, при ишемии и реперфузии миокарда в левом желудочке формировались менее обширные зоны некроза по сравнению с группой Контроль<sub>стар</sub>. Таким образом, у старых крыс имел место выраженный противоишемический эффект ДИПостК. В условиях системного действия в организме животных блокатора М-холинореактивных систем атропина у старых крыс ДИПостК также оказывал противоишемический эффект.

У молодых крыс выявлены следующие размеры зоны некроза в миокарде левого желудочка: в группе Контроль<sub>молод</sub> –  $46 \pm 4\%$ , в группе ДИПостК<sub>молод</sub> –  $25 \pm 2\%$  ( $p < 0,01$  по сравнению с группой Контроль<sub>молод</sub>), в группе Атропин + ДИПостК<sub>молод</sub> –  $38 \pm 3\%$  ( $p < 0,05$  по сравнению с группой Контроль<sub>молод</sub>) (рис. 2).

При проведении исследования установлено, что у молодых крыс после воспроизведения ДИПостК имело место статистически значимое снижение размеров зоны некроза в миокарде левого желудочка по сравнению с группой Контроль. Однако после внутривенного введения животным атропина в дозе 2 мг/кг, которое осуществлялось за 10 мин до воспроизведения ДИПостК, у молодых крыс при ишемии и реперфузии миокарда в левом желудочке формировались сопоставимые по размерам с группой Контроль зоны некроза.

Следовательно, результаты исследования свидетельствуют о наличии выраженного противоишемического эффекта ДИПостК у молодых крыс. Однако в условиях системного действия в организме животных блокатора М-холинореактивных систем атропина (2 мг/кг) у молодых крыс ДИПостК не оказывало противоишемического эффекта.

Таким образом, согласно имеющимся литературным данным, у старых крыс имеет место выраженное снижение интенсивности процессов синтеза ацетилхолина и активности ацетилхолинтрансферазы, что может свидетельствовать о нарушении процессов холинергической регуляции сердечной деятельности у таких животных. Полученные данные дают основания полагать, что

активность периферических М-холинореактивных систем имеет значение в механизмах реализации противоишемического эффекта ДИПостК у молодых, но не у старых крыс. В пользу такого предположения свидетельствуют и имеющиеся в литературе сведения о том, что при старении организма у животных отмечаются деструкция холинэргических нервных окончаний и уменьшение числа М-холинорецепторов в миокарде, что в конечном итоге ведет к ослаблению парасимпатических влияний на сердце у старых животных [16, 17].

**Заключение.** ДИПостК оказывает инфаркт-лимитирующий эффект при ишемии-реперфузии миокарда как у молодых, так и у старых крыс, однако в условиях системного действия атропина этот эффект ДИПостК сохраняется только у старых крыс. Установлено, что ДИПостК у старых крыс после введения в организм животных атропина в дозе 2 мг/кг приводит к уменьшению размеров зоны некроза в миокарде левого желудочка на 59,6 % ( $p < 0,01$ ) по сравнению с таковой у старых крыс контрольной группы. По-видимому, активность периферических М-холинореактивных систем имеет значение в механизмах реализации кардиопротекторных эффектов ДИПостК у молодых, но не у старых крыс, что позволяет говорить о необходимости дифференцированного подхода к применению ДИПостК при ишемии-реперфузии миокарда у молодых и старых животных.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

### Список использованных источников

1. Сердечно-сосудистые заболевания в Республике Беларусь: анализ ситуации и стратегии контроля / А. Г. Мрочек [и др.]. – Минск : Беларус. навука, 2011. – 342 с.
2. Шляхто, Е. В. Ограничение ишемического и реперфузионного повреждения миокарда с помощью пре- и посткондиционирования: молекулярные механизмы и мишени для фармакотерапии / Е. В. Шляхто, Е. М. Нифонтов, М. М. Галагудза // Креатив. кардиология. – 2007. – № 1–2. – С. 75–101.
3. Кардиопротективные эффекты ишемического кондиционирования: современные представления о механизмах, экспериментальные подтверждения, клиническая реализация / А. Е. Баутин [и др.] // Трансляц. медицина. – 2016. – Т. 3, № 1. – С. 50–62.
4. Кардиопротективный эффект дистантного посткондиционирования: механизмы и возможность клинического применения / Л. Н. Маслов [и др.] // Клини. медицина. – 2016. – Т. 94, № 9. – С. 650–656.
5. Remote ischaemic pre- and delayed postconditioning – similar degree of cardioprotection but distinct mechanisms / M. Basalay [et al.] // Exp. Physiol. – 2012. – Vol. 97, N 8. – P. 908–917. <https://doi.org/10.1113/expphysiol.2012.064923>
6. Кардиопротекторная эффективность дистантного ишемического прекодиционирования при ишемии-реперфузии миокарда у крыс с экспериментальной дислипидемией / Ф. И. Висмонт [и др.] // Вест. Нац. акад. навук Беларусі. Сер. мед. навук. – 2018. – Т. 15, № 2. – С. 215–221.
7. Кардиопротекторная эффективность дистантного ишемического посткондиционирования при ишемии-реперфузии миокарда у старых крыс / Ф. И. Висмонт [и др.] // БГМУ в авангарде медицинской науки и практики : сб. рец. науч. работ / Белорус. гос. мед. ун-т ; под ред. А. В. Сикорского, О. К. Дорониной. – Минск, 2017. – Вып. 7. – С. 181–186.
8. Interaction of risk factors, comorbidities, and comedications with ischemia/reperfusion injury and cardioprotection by preconditioning, postconditioning, and remote conditioning / P. Ferdinandy [et al.] // Pharmacol. Rev. – 2014. – Vol. 66, N 4. – P. 1142–1174. <https://doi.org/10.1124/pr.113.008300>
9. Schmidt, M. R. Remote ischemic preconditioning: no loss in clinical translation / M. R. Schmidt, S. B. Kristiansen, H. E. Bøtker // Circ. Res. – 2013. – Vol. 113, N 12. – P. 1278–1280. <https://doi.org/10.1161/circresaha.113.302942>
10. Boengler, K. Loss of cardioprotection with ageing / K. Boengler, R. Schulz, G. Heusch // Cardiovasc. Res. – 2009. – Vol. 83, N 2. – P. 247–261. <https://doi.org/10.1093/cvr/cvp033>
11. Przyklenk, K. Efficacy of cardioprotective ‘conditioning’ strategies in aging and diabetic cohorts: the co-morbidity conundrum / K. Przyklenk // Drugs Aging. – 2011. – Vol. 28, N 5. – P. 331–343. <https://doi.org/10.2165/11587190-000000000-00000>
12. Aging mouse hearts are refractory to infarct size reduction with postconditioning / K. Przyklenk [et al.] // J. Am. Coll. Cardiol. – 2008. – Vol. 51, N 14. – P. 1393–1398. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2007.11.070>
13. Balakumar, P. Pre-conditioning and postconditioning to limit ischemia-reperfusion-induced myocardial injury: what could be the next footstep? / P. Balakumar, A. Rohilla, M. Singh // Pharm. Res. – 2008. – Vol. 57, N 6. – P. 403–412. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2008.05.006>
14. Адаптивный феномен ишемического посткондиционирования сердца. Перспективы клинического применения / Л. Н. Маслов [и др.] // Вестн. Рос. акад. мед. наук. – 2013. – Т. 68, № 1. – С. 10–20.
15. Биология старения / В. В. Фролькис [и др.] ; редкол. : В. В. Фролькис (отв. ред.) [и др.]. – Ленинград : Наука. Ленингр. отд-ние, 1982. – 618 с.
16. Фролькис, В. В. Нервная регуляция функции сердца при старении / В. В. Фролькис, Н. С. Верхратский, В. Г. Шевчук // Физиол. журн. СССР. – 1977. – Т. 63, № 8. – С. 1134–1143.
17. Acetylcholine as an age-dependent non-neuronal source in the heart / O. R. Rana [et al.] // Autonom. Neurosci. – 2010. – Vol. 156, N 1–2. – P. 82–89. <https://doi.org/10.1016/j.autneu.2010.04.011>
18. Cholinergic agonists may produce preservation of myocardial ischaemia/reperfusion injury / J. Xiong [et al.] // Med. Hypotheses. – 2009. – Vol. 73, N 3. – P. 312–314. <https://doi.org/10.1016/j.mehy.2009.03.026>

19. Efferent vagal nerve stimulation protects heart against ischemia-induced arrhythmias by preserving connexin43 protein / M. Ando [et al.] // *Circulation*. – 2005. – Vol. 112, N 2. – P. 164–170. <https://doi.org/10.1161/circulationaha.104.525493>
20. Vagal nerve stimulation prevents reperfusion injury through inhibition of opening of mitochondrial permeability transition pore independent of the bradycardiac effect / R. G. Katare [et al.] // *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* – 2009. – Vol. 137, N 1. – P. 223–231. <https://doi.org/10.1016/j.jtcvs.2008.08.020>
21. Role of the parasympathetic nervous system in cardioprotection by remote hindlimb ischaemic preconditioning / M. Donato [et al.] // *Exp. Physiol.* – 2013. – Vol. 98, N 2. – P. 425–434. <https://doi.org/10.1113/expphysiol.2012.066217>
22. Механизмы парасимпатических влияний на сердце в развитии противоишемического эффекта дистантного кондиционирования миокарда / А. Г. Мрочек [и др.] // *Евраз. кардиол. журн.* – 2014. – № 1. – С. 81–88.
23. Revisiting the cardioprotective effects of acetylcholine receptor activation against myocardial ischemia/reperfusion injury / K. Intachai [et al.] // *Int. J. Mol. Sci.* – 2018. – Vol. 19, N 9. – P. 2466. <https://doi.org/10.3390/ijms19092466>
24. Council Directive 86/609/EEC of 24 November 1986 on the approximation of laws, regulations and administrative provisions of the Member States regarding the protection of animals used for experimental and other scientific purposes [Electronic resource]. – Mode of access : [www.eur-lex.europa.eu](http://www.eur-lex.europa.eu). – Date of access : 28.06.2019.
25. Технический кодекс установившейся практики 125-2008 «Надлежащая лабораторная практика», утвержденный постановлением М-ва здравоохранения Республики Беларусь № 56 от 28.03.2008 г. – Минск, 2008. – 35 с.
26. Ветеринарно-санитарные правила по приему, уходу и вскрытию подопытных животных в вивариях научно-исследовательских институтов, станциях, лабораториях, учебных заведениях, а также в питомниках // Национальный фонд технических нормативных правовых актов Республики Беларусь [Электронный ресурс]. – Режим доступа : <http://www.tnpa.by/#!/FileText/348641/250983>. – Дата доступа : 28.06.2019.
27. О нормах кормления лабораторных животных и продуцентов: приказ М-ва здравоохранения СССР от 10 марта 1966 г. №163 // *Правовая Россия* [Электронный ресурс]. – Режим доступа : <http://lawgu.info/dok/1966/03/10/n1190735.htm>. – Дата доступа : 28.06.2019.
28. Coronary artery ligation in anesthetized rats as a method for the production of experimental dysrhythmias and for the determination of infarct size / C. Clark [et al.] // *J. Pharmacol. Meth.* – 1980. – Vol. 3, N 4. – P. 357–368. [https://doi.org/10.1016/0160-5402\(80\)90077-7](https://doi.org/10.1016/0160-5402(80)90077-7)
29. Early phase acute myocardial infarct size quantification: validation of the triphenyl tetrazolium chloride tissue enzyme staining technique / M. C. Fishbein [et al.] // *Am. Heart J.* – 1981. – Vol. 101, N 5. – P. 593–600. [https://doi.org/10.1016/0002-8703\(81\)90226-x](https://doi.org/10.1016/0002-8703(81)90226-x)

## References

1. Mrochek A. G., Grakovich A. A., Kozlov I. D., Gorbachev V. V. *Cardiovascular diseases in the Republic of Belarus: the analysis of the situation and control strategy*. Minsk, Belaruskaya navuka Publ., 2011. 342 p. (in Russian).
2. Shlyakhto E. V., Nifontov E. M., Galagudza M. M. Limitation of ischemic and reperfusion injury of the myocardium using pre- and postconditioning: molecular mechanisms and targets for pharmacotherapy. *Kreativnaya kardiologiya = Creative Cardiology*, 2007, no. 1–2, pp. 75–101 (in Russian).
3. Bautin A. E., Karpova L. I., Marichev A. O., Tashkhanov D. M., Naumenko V. S., Galagudza M. M. Cardioprotective effects of ischemic conditioning: current concepts of mechanisms, experimental evidence, clinical implementation. *Translyatsionnaya meditsina = Translational medicine*, 2016, vol. 3, no. 1, pp. 50–62 (in Russian).
4. Maslov L. N., Tsibul'nikov S. Yu., Tsepokina A. V., Khutornaya M. V., Kutikhin A. G., Gurin A. V., Basalai M. V., Mrochek A. G. Cardioprotective effect of distant postconditioning: mechanisms and clinical applicability. *Klinicheskaya meditsina = Clinical medicine*, 2016, vol. 94, no. 9, pp. 650–656 (in Russian).
5. Basalay M., Barsukevich V., Mastitskaya S., Mrochek A., Pernow J., Sjöquist P.-O., Ackland G. L., Gourine A. V., Gourine A. Remote ischaemic pre- and delayed postconditioning – similar degree of cardioprotection but distinct mechanisms. *Experimental Physiology*, 2012, vol. 97, no. 8, pp. 908–917. <https://doi.org/10.1113/expphysiol.2012.064923>
6. Vismont F. I., Chepelev S. N., Glebov A. N., Vismont A. F., Yushkevich P. F. Cardioprotective efficacy of distant ischemic preconditioning in myocardial ischemia-reperfusion in rats with experimental dyslipidemia. *Vesti Natsyonal'nai akademii navuk Belarusi. Seriya meditsinskikh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2018, vol. 15, no. 2, pp. 215–221 (in Russian).
7. Vismont F. I., Chepelev S. N., Glebov A. N., Yushkevich P. F., Cardioprotective efficacy of distant ischemic postconditioning for myocardial ischemia-reperfusion in old rats. *Belorusskii gosudarstvennyi meditsinskii universitet v avangarde meditsinskoi nauki i praktiki: sbornik retsenziruemykh nauchnykh rabot* [Belarusian State Medical University at the forefront of medical science and practice: a collection of peer-reviewed scientific papers]. Minsk, 2017, iss. 7, pp. 181–186 (in Russian).
8. Ferdinandy P., Hausenloy D. J., Heusch G., Baxter G. F., Schulz R. Interaction of risk factors, comorbidities, and comedications with ischemia/reperfusion injury and cardioprotection by preconditioning, postconditioning, and remote conditioning. *Pharmacological Reviews*, 2014, vol. 66, no. 4, pp. 1142–1174. <https://doi.org/10.1124/pr.113.008300>
9. Schmidt M. R., Kristiansen S. B., Bøtker H. E. Remote ischemic preconditioning: no loss in clinical translation. *Circulation Research*, 2013, vol. 113, no. 12, pp. 1278–1280. <https://doi.org/10.1161/circresaha.113.302942>
10. Boengler K., Schulz R., Heusch G. Loss of cardioprotection with ageing. *Cardiovascular Research*, 2009, vol. 83, no. 2, pp. 247–261. <https://doi.org/10.1093/cvr/cvp033>
11. Przyklenk K. Efficacy of cardioprotective ‘conditioning’ strategies in aging and diabetic cohorts: the co-morbidity conundrum. *Drugs and Aging*, 2011, vol. 28, no. 5, pp. 331–343. <https://doi.org/10.2165/11587190-000000000-00000>

12. Przyklenk K., Maynard M., Darling C. E., Whittaker P. Aging mouse hearts are refractory to infarct size reduction with postconditioning. *Journal of the American College of Cardiology*, 2008, vol. 51, no. 14, pp. 1393–1398. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2007.11.070>
13. Balakumar P., Rohilla A., Singh M. Pre-conditioning and postconditioning to limit ischemia-reperfusion-induced myocardial injury: what could be the next footprint? *Pharmacological Research*, 2008, vol. 57, no. 6, pp. 403–412. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2008.05.006>
14. Maslov L. N., Mrochek A. G., Khaliulin I. G., Khanush L., Pei Zh. M., Zhang I. The adaptive phenomenon of ischemic postconditioning of the heart. Prospects for clinical use. *Vestnik Rossiiskoi akademii meditsinskikh nauk = Bulletin of the Russian Academy of Medical Sciences*, 2013, vol. 68, no. 1, pp. 10–20 (in Russian).
15. Frol'kis V. V. (ed.). *Biology of aging*. Leningrad, Nauka. Leningradskoe otdelenie Publ., 1982. 618 p. (in Russian).
16. Frol'kis V. V., Verkhatskiy N. S., Shevchuk V. G. Nervous regulation of heart function during aging. *Fiziologicheskii zhurnal SSSR [Physiological journal of the USSR]*, 1977, vol. 63, no. 8, pp. 1134–1143 (in Russian).
17. Rana O. R., Schauer P., Kluttig R., Schröder J. W., Koenen R. R., Weber C., Nolte K. W., Weis J., Hoffmann R., Marx N., Saygili E. Acetylcholine as an age-dependent non-neuronal source in the heart. *Autonomic Neuroscience*, 2010, vol. 156, no. 1–2, pp. 82–89. <https://doi.org/10.1016/j.autneu.2010.04.011>
18. Xiong J., Xue F. S., Xu Y. C., Yang Q. Y., Liao X., Wang W. L. Cholinergic agonists may produce preservation of myocardial ischaemia/reperfusion injury. *Medical Hypotheses*, 2009, vol. 73, no. 3, pp. 312–314. <https://doi.org/10.1016/j.mehy.2009.03.026>
19. Ando M., Katare R. G., Kakinuma Y., Zhang D., Yamasaki F., Muramoto K., Sato T. Efferent vagal nerve stimulation protects heart against ischemia-induced arrhythmias by preserving connexin43 protein. *Circulation*, 2005, vol. 112, no. 2, pp. 164–170. <https://doi.org/10.1161/circulationaha.104.525493>
20. Katare R. G., Ando M., Kakinuma Y., Arikawa M., Handa T., Yamasaki F., Sato T. Vagal nerve stimulation prevents reperfusion injury through inhibition of opening of mitochondrial permeability transition pore independent of the bradycardiac effect. *Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*, 2009, vol. 137, no. 1, pp. 223–231. <https://doi.org/10.1016/j.jtcvs.2008.08.020>
21. Donato M., Buchholz B., Rodriguez M., Perez V., Inserte J., Garcia-Dorado D., Gelpi R. J. Role of the parasympathetic nervous system in cardioprotection by remote hindlimb ischaemic preconditioning. *Experimental Physiology*, 2013, vol. 98, no. 2, pp. 425–434. <https://doi.org/10.1113/expphysiol.2012.066217>
22. Mrochek A. G., Bulgak A. G., Basalai M. V., Barsukevich V. C., Gurin A. V. Mechanisms of parasympathetic influences on the heart in the development of the anti-ischemic effect of distant myocardium conditioning. *Evrziiskii kardiologicheskii zhurnal = Eurasian cardiology journal*, 2014, no. 1, pp. 81–88 (in Russian).
23. Intachai K., Chattipakorn S. C., Chattipakorn N., Shinlapwittayatorn K. Revisiting the cardioprotective effects of acetylcholine receptor activation against myocardial ischemia/reperfusion injury. *International Journal of Molecular Sciences*, 2018, vol. 19, no. 9, p. 2466. <https://doi.org/10.3390/ijms19092466>
24. Council Directive 86/609/EEC of 24 November 1986 on the approximation of laws, regulations and administrative provisions of the Member States regarding the protection of animals used for experimental and other scientific purposes. Available at: <http://www.eur-lex.europa.eu>. (accessed 28.06.2019).
25. Technical Code of Good Practice 125-2008. *Good Laboratory Practice, approved by the Republic of Belarus Ministry of Health decree № 56 from 28.03.2008*. Minsk, 2008. 35 p. (in Russian).
26. The animal health rules for the reception, care and dissection of the experimental animals in the vivarium research institutes, stations, laboratories, schools and nurseries. *National Fund of Technical Legal Acts of the Republic of Belarus*. Available at: <http://www.tnpu.by/#!/FileText/348641/250983> (accessed 28.06.2019) (in Russian).
27. On the norms of feeding laboratory animals and producers: order of the USSR Ministry of Health on March 10, 1966 № 163. *Legal Russia*. Available at: <http://lawru.info/dok/1966/03/10/n1190735.htm> (accessed 28.06.2019) (in Russian).
28. Clark C., Foreman M. I., Kane K. A., McDonald F. M., Parratt J. R. Coronary artery ligation in anesthetized rats as a method for the production of experimental dysrhythmias and for the determination of infarct size. *Journal of Pharmacological Methods*, 1980, vol. 3, no. 4, pp. 357–368. [https://doi.org/10.1016/0160-5402\(80\)90077-7](https://doi.org/10.1016/0160-5402(80)90077-7)
29. Fishbein M. C., Meerbaum S., Rit J., Lando U., Kanmatsuse K., Mercier J. C., Corday E., Ganz W. Early phase acute myocardial infarct size quantification: validation of the triphenyl tetrazolium chloride tissue enzyme staining technique. *American Heart Journal*, 1981, vol. 101, no. 5, pp. 593–600. [https://doi.org/10.1016/0002-8703\(81\)90226-x](https://doi.org/10.1016/0002-8703(81)90226-x)

### Информация об авторах

Висмонт Франтишек Иванович – член-корреспондент, д-р мед. наук, профессор, заведующий кафедрой. Белорусский государственный медицинский университет (пр-т Дзержинского, 83, 220116, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: [patfiz@bsmu.by](mailto:patfiz@bsmu.by)

Чепелев Сергей Николаевич – ст. преподаватель. Белорусский государственный медицинский университет (пр-т Дзержинского, 83, 220116, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: [drserge1991@gmail.com](mailto:drserge1991@gmail.com)

Юшкевич Павел Францевич – канд. мед. наук, ассистент. Белорусский государственный медицинский университет (пр-т Дзержинского, 83, 220116, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: [patfiz@bsmu.by](mailto:patfiz@bsmu.by)

### Information about the authors

Frantishek I. Vismont – Corresponding Member, D. Sc. (Med.), Professor, Head of the Department. Belarusian State Medical University (83, Dzerzhynskii Ave., 220116, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: [patfiz@bsmu.by](mailto:patfiz@bsmu.by)

Sergey N. Chepelev – Senior Lecturer. Belarusian State Medical University (83, Dzerzhynskii Ave., 220116, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: [drserge1991@gmail.com](mailto:drserge1991@gmail.com)

Pavel F. Jushkevich – Ph. D. (Biol.), Assistant. Belarusian State Medical University (83, Dzerzhynskii Ave., 220116, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: [patfiz@bsmu.by](mailto:patfiz@bsmu.by)

**Ю. Я. Шелкович, В. И. Шишко, Я. Р. Мацюк, В. А. Басинский**

*Гродненский государственный медицинский университет, Гродно, Республика Беларусь*

**МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ ПИЩЕВОДА  
У ПАЦИЕНТОВ С ГАСТРОЭЗОФАГЕАЛЬНОЙ РЕФЛЮКСНОЙ БОЛЕЗНЬЮ,  
АССОЦИИРОВАННОЙ С СИНДРОМОМ ОБСТРУКТИВНОГО  
АПНОЭ/ГИПОПНОЭ СНА**

**Аннотация.** В настоящее время вопросы морфологических особенностей поражения пищевода у пациентов с гастроэзофагеальной рефлюксной болезнью (ГЭРБ) и синдромом обструктивного апноэ/гипопноэ сна (СОАГС) изучены недостаточно.

Цель работы – установить морфологические особенности поражения слизистой оболочки пищевода у пациентов с ГЭРБ и СОАГС.

Обследовано 143 пациента, у которых были проведены эзофагогастродуоденоскопия с биопсией нижней трети пищевода и осуществлен респираторный мониторинг. Пациенты были разделены на группы: группа 1 – пациенты с ГЭРБ, группа 2 – лица с ГЭРБ и СОАГС, группа 3 – пациенты с СОАГС, группа 4 – пациенты группы сравнения. Выполнено морфологическое исследование препаратов с морфометрической оценкой толщины эпителия, высоты соединительнотканых сосочков, межъядерных расстояний и межклеточных промежутков.

Установлено, что у пациентов с ГЭРБ, в отличие от лиц группы сравнения, более выражена толщина эпителия, более высокие соединительнотканые сосочки, более широкие межъядерные промежутки в поверхностном, шиповатом, базальном слоях эпителия, имеются расширенные межклеточные пространства в эпителии пищевода. У пациентов с ГЭРБ в сочетании с СОАГС более выраженная толщина эпителия и более широкие межъядерные расстояния в шиповатом слое эпителия, чем у пациентов с ГЭРБ, наблюдаются высокие соединительнотканые сосочки с расширенными капиллярами и признаками микроангиопатии, склеротические изменения в слизистой пищевода.

Полученные данные могут указывать на более выраженные процессы дезорганизации эпителия у пациентов с ГЭРБ, ассоциированной с СОАГС, чем у пациентов с ГЭРБ без СОАГС.

**Ключевые слова:** гастроэзофагеальная рефлюксная болезнь, синдром обструктивного апноэ/гипопноэ сна, слизистая оболочка нижней трети пищевода, толщина эпителия, соединительнотканые сосочки, межъядерные расстояния

**Для цитирования:** Морфологические особенности слизистой оболочки пищевода у пациентов с гастроэзофагеальной рефлюксной болезнью, ассоциированной с синдромом обструктивного апноэ/гипопноэ сна / Ю. Я. Шелкович [и др.] // Вес. Нац. акад. наук Беларусі. Сер. мед. навук. – 2019. – Т. 16, № 4. – С. 434–442. <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2019-16-4-434-442>

**Y. Y. Shaukovich, V. I. Shyshko, Y. R. Matsiuk, V. A. Basinski**

*Grodno State Medical University, Grodno, Republic of Belarus*

**MORPHOLOGICAL FEATURES OF ESOPHAGEAL MUCOSA DAMAGE IN PATIENTS  
WITH THE GASTROESOPHAGEAL REFLUX DISEASE ASSOCIATED  
WITH THE OBSTRUCTIVE SLEEP APNEA/HYPOPNEA SYNDROME**

**Abstract.** Nowadays the morphological features of esophageal mucosa damage in patients with the gastroesophageal reflux disease (GERD) and the obstructive sleep apnea/hypopnea syndrome (OSAHS) are not completely researched.

The objective of the study was to determine the morphological features of esophageal mucosa damage in patients with GERD and OSAHS.

143 patients underwent esophagogastroduodenoscopy with biopsy of the lower third of the esophagus and respiratory monitoring. Patients were divided into 4 groups: group 1 – patients with GERD, group 2 – patients with GERD and OSAHS, group 3 – with OSAHS, group 4 – comparison group. Morphological examination with morphometric assessment of epithelium thickness, height of connective tissue papillae, internuclear distances and intercellular spaces was performed.

Patients with GERD are characterized by a large thickness of the epithelium, higher connective tissue papillae, wider internuclear spaces in epithelium layers, enlarged intercellular spaces in the epithelium of the esophagus in contrast to the patients of the comparison group. Patients with GERD and OSAHS have a more pronounced epithelium thickness and wider internuclear distances in the prickly layer of the epithelium compared with patients with GERD, the high connective tissue papillae with dilated capillaries and signs of microangiopathy, sclerotic changes in the mucosa of the esophagus are determined.

The obtained data show that patients with GERD and OSAHS had more pronounced epithelial disorganization in comparison with patients with GERD without OSAHS.

**Keywords:** gastroesophageal reflux disease, obstructive sleep apnea/hypopnea syndrome, mucosa of the lower third of the esophagus, epithelium thickness, connective tissue papillae, internuclear distances

**For citation:** Shaukovich Y. Y., Shyshko V. I., Matsiuk Y. R., Basinski V. A. Morphological features of esophageal mucosa damage in patients with the gastroesophageal reflux disease associated with the obstructive sleep apnea/hypopnea syndrome. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seriya meditsinskikh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2019, vol. 16, no. 4, pp. 443–442 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2019-16-4-434-442>

**Введение.** Гастроэзофагеальная рефлюксная болезнь (ГЭРБ) занимает особое место среди болезней верхних отделов желудочно-кишечного тракта, что связано в первую очередь с ее широкой распространенностью среди взрослого населения, которая составляет в разных странах от 15 до 50 % [1, 2]. Одним из коморбидных заболеваний, часто сопровождающих рефлюксную патологию, является синдром обструктивного апноэ/гипопноэ сна (СОАГС). Существующий ряд сложностей в своевременной диагностике ГЭРБ у лиц с СОАГС обусловлен малосимптомным течением заболевания и наличием атипичных клинических форм ГЭРБ [3, 4].

В настоящее время хорошо изучены эндоскопические признаки ГЭРБ, которые наряду с клиническими данными составляют основу диагностики заболевания. Именно на эндоскопических признаках базируется используемая в настоящее время Лос-Анджелесская классификация степени тяжести эзофагита [5].

Тем не менее, эндоскопически позитивная ГЭРБ выявляется лишь у 20–40 % пациентов, в то время как до 55–70 % (по данным различных авторов) из них – это лица с эндоскопически негативной ГЭРБ, которые не имеют выраженных видимых изменений нижней трети пищевода, однако при гистологическом исследовании, как правило, обнаруживаются характерные для заболевания морфологические изменения [5–7].

Таким образом, целесообразным представляется использование морфологических критериев ГЭРБ, которые были опубликованы в 2018 г. по результатам работы Лионского консенсуса и легли в основу гистологического метода верификации данного заболевания. Морфологическими признаками ГЭРБ являются: 1) утолщение эпителия за счет пролиферации базального слоя вследствие быстрой регенерации; 2) удлинение соединительнотканых сосочков; 3) расширение межклеточных промежутков; 4) воспалительные изменения слизистой в виде повышения содержания внутриэпителиальных лимфоцитов, эозинофилов; 5) наличие эрозий, язв, признаков некроза [8, 9].

Несмотря на недавнее согласование позиции по гистологической картине слизистой пищевода при ГЭРБ, следует отметить, что особенности поражения слизистой оболочки нижней трети пищевода у пациентов с ГЭРБ, протекающей на фоне СОАГС, до конца не установлены. Интерес представляет изучение межъядерных пространств и межклеточных промежутков в эпителии пищевода данной категории пациентов, что позволило бы охарактеризовать процессы дистрофии и дезорганизации эпителиального пласта и установить отличительные гистологические особенности ГЭРБ у пациентов с СОАГС в сравнении с ГЭРБ без респираторных нарушений.

Цель исследования – определение морфологических особенностей поражения слизистой оболочки нижней трети пищевода у пациентов с гастроэзофагеальной рефлюксной болезнью, ассоциированной с синдромом обструктивного апноэ/гипопноэ сна.

**Материалы и методы исследования.** На базе Городской клинической больницы № 2 г. Гродно было отобрано 143 пациента (85 (59 %) мужчин, 58 (41 %) женщин), включая лиц с клинико-инструментальными признаками ГЭРБ и/или СОАГС, а также лиц группы сравнения. Медиана возраста пациентов составила 48 (42; 54) лет. Протокол исследования был одобрен этическим комитетом учреждения.

Критериями невключения явились: хроническая ишемическая болезнь сердца выше II функционального класса стенокардии; недостаточность кровообращения выше IIIА; язва желудка и/или двенадцатиперстной кишки; хронические декомпенсированные заболевания различных органов и систем; грубая лор-патология (требующая хирургической коррекции); постоянный прием психотропных средств, миорелаксантов, других препаратов, влияющих на тонус нижнего пищеводного сфинктера и функцию дыхания во сне [4].

Клиническую оценку выраженности симптоматики ГЭРБ осуществляли с помощью опросника GERDQ [10]. Всем пациентам выполняли эзофагогастродуоденоскопию (ЭГДС). Степень тяжести рефлюксного эзофагита оценивали с использованием Лос-Анджелесской системы классификации [5]. Забор гистологического материала для морфологического исследования осуществляли из нижней трети пищевода: у пациентов с эндоскопическими изменениями – из мест с наибольшей выраженностью изменений после визуальной оценки, у пациентов без видимых эндоскопических изменений – на 3 см выше Z-линии.

Гистологические срезы готовили по стандартной методике с окраской препаратов по Романовскому–Гимзе, после чего их подвергали световой микроскопии, а затем выполняли морфометрическое исследование с помощью компьютерного анализатора изображения при разных увеличениях микроскопа Axioscop 2 plus (Carl Zeiss, Германия) и цифровой видеокамеры Leica DFC 320 (Германия), используя программу Image Warp (Bit Flow, США). Измеряли толщину эпителия, длину соединительнотканых сосочков, межъядерные расстояния в различных слоях эпителия и межклеточные промежутки (с учетом разрешающей способности используемого оборудования).

Диагностика СОАГС основывалась на данных характерных жалоб (храп, остановки дыхания во сне, дневная сонливость и др.), оценки клинических маркеров заболевания (абдоминальное ожирение, увеличение окружности шеи, особенности строения лицевого скелета) и уровня дневной сонливости с использованием опросника Эпворта [11]. Диагноз был подтвержден результатами компьютерной пульсоксиметрии с регистрацией носового дыхательного потока (SOMNOcheck micro, Weinmann) и расчетом следующих показателей: количество и длительность эпизодов апноэ и гипопноэ; индекс апноэ/гипопноэ (ИАГ); индекс десатурации; индекс автономной активации (ИАА) вегетативных пробуждений; ИАА, связанной с респираторными событиями; уровни насыщения крови кислородом за период сна [4].

Группу 1 ( $n = 35$ ) составили пациенты с ГЭРБ; группу 2 ( $n = 40$ ) – пациенты с ГЭРБ в сочетании с СОАГС, среди которых 24 (60 %) человека с легкой степенью СОАГС и 16 (40 %) – со средней степенью тяжести СОАГС; группу 3 ( $n = 38$ ) – пациенты с СОАГС, из которых 25 (66 %) человек имели СОАГС легкой степени, 13 (34 %) – СОАГС средней степени тяжести; группу 4 (группа сравнения) ( $n = 30$ ) составили лица, включенные в исследование согласно критериям включения и исключения, у которых по результатам обследования ГЭРБ и СОАГС не выявлены.

Полученные данные обрабатывали с помощью непараметрических методов программы Statistica 10.0. Для множественного сравнения исследуемых групп был использован критерий Краскела–Уоллиса, далее был проведен апостериорный анализ с применением теста Данна–Бонферрони. Различия признавали статистически значимыми при  $p < 0,05$ . Числовые данные отражены в виде медианы, 25-го и 75-го центилей [4, 12].

**Результаты и их обсуждение.** В группе пациентов с ГЭРБ выявлена воспалительная инфильтрация собственного и подслизистого слоев слизистой оболочки пищевода. Отмечается пролиферация клеток базального слоя, толщина которого достигает до 6–7 рядов. Данное явление описано в литературе как регенеративная эзофагопатия [13]. Клетки обладают более высокими базофильными свойствами не только ядер, но и цитоплазмы. Последнее является доказательством их молодого и, вероятно, незрелого возраста. Также отмечают признаки дистрофического процесса в виде внутриклеточного отека, эпителий утолщен за счет выраженной гидропической дистрофии. Вдающиеся в эпителий соединительнотканые сосочки, как правило, узкие, но глубокие, достигают поверхностного слоя эпителиального пласта. Ядра многих эпителиоцитов подвигнуты пикнозу с эксцентрическим расположением в клетке. Характерной особенностью эпителия этих пациентов является расширение межклеточных пространств, чего не наблюдается в группах 3 и 4. На рис. 1 представлен общий вид эпителия пищевода пациента с ГЭРБ, на рис. 2 – общий вид эпителия пищевода пациента группы сравнения.

Также у пациентов, имевших ГЭРБ в сочетании с СОАГС или без него, отмечались расширенные межклеточные промежутки в среднем до 1,037 (0,898; 1,17) мкм (рис. 3), в то время как у пациентов групп 3 и 4 данные изменения при световой микроскопии не наблюдались (рис. 4).

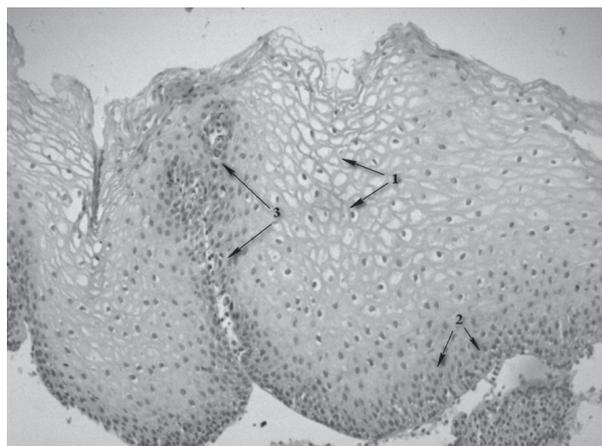


Рис. 1. Общий вид эпителия пищевода пациента с ГЭРБ: утолщенный эпителий, гидропическая дистрофия (1), гиперплазия базального слоя (2), высокий соединительнотканый сосочек (3). Окраска гематоксилином и эозином.  $\times 200$

Fig. 1. General view of the esophageal epithelium of a patient with GERD: thickened epithelium, hydroptic dystrophy (1), basal layer hyperplasia (2), high connective tissue papilla (3). Hematoxyline and eosine stain.  $\times 200$

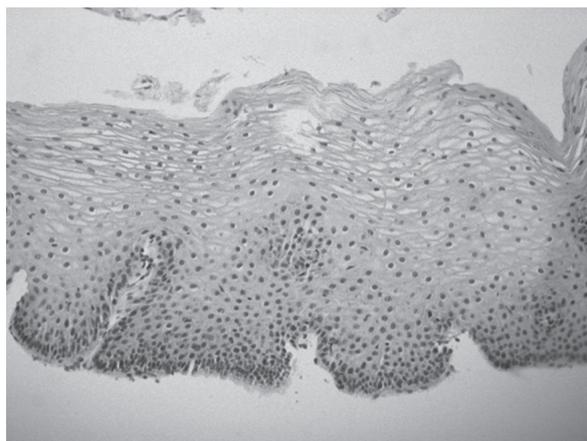


Рис. 2. Общий вид многослойного плоского эпителия пищевода пациента группы сравнения. Окраска гематоксилином и эозином.  $\times 100$

Fig. 2. General view of the stratified squamous epithelium of a patient of the comparison group. Hematoxyline and eosine stain.  $\times 100$

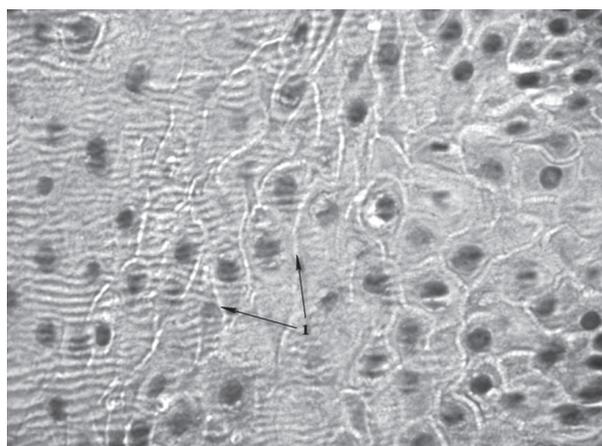


Рис. 3. Расширенные межклеточные пространства (1) в эпителии пищевода пациента с ГЭРБ. Окраска гематоксилином и эозином.  $\times 400$

Fig. 3. Dilated intercellular spaces (1) in the stratified squamous epithelium of a patient with GERD. Hematoxyline and eosine stain.  $\times 400$

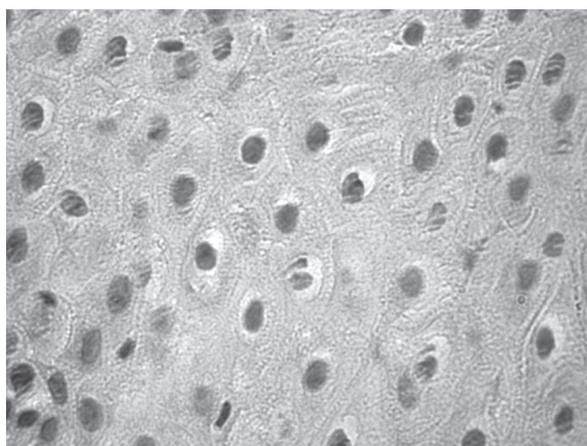


Рис. 4. Отсутствие расширенных межклеточных пространств в эпителии пищевода у пациента группы сравнения. Окраска гематоксилином и эозином.  $\times 400$

Fig. 4. The absence of dilated intercellular spaces in the stratified squamous epithelium of a patient of comparison group. Hematoxyline and eosine stain.  $\times 400$

В группе пациентов с ГЭРБ в сочетании с СОАГС при визуальной оценке состояния слизистой воспалительные изменения несколько менее выражены, чем в группе лиц с ГЭРБ, но отмечается высокая пролиферативная активность клеток базального слоя эпителия слизистой оболочки пищевода. Эпителиоциты, особенно поверхностного слоя, подвержены пикнозу. В ряде случаев наблюдаются склеротические изменения (рис. 5). Соединительнотканые сосочки, вдающиеся в эпителий, зачастую с расширенными в области верхушки кровеносными капиллярами («симптом сосудистых озер») (рис. 6), что может свидетельствовать о развитии микроангиопатии в слизистой пищевода [14]. Вдоль этих капилляров и их адвентиции встречается лейкоцитарная инфильтрация.

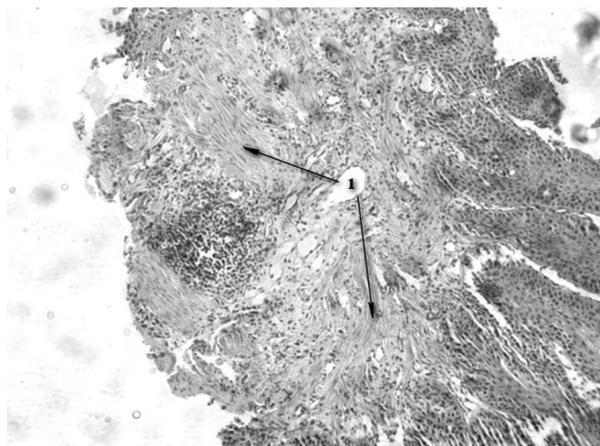


Рис. 5. Склеротические изменения в эпителии пищевода (I) пациента с ГЭРБ и СОАГС. Окраска гематоксилином и эозином.  $\times 100$

Fig. 5. Sclerotic changes in the esophageal epithelium (I) of a patient with GERD and OSAHS. Hematoxyline and eosine stain.  $\times 100$

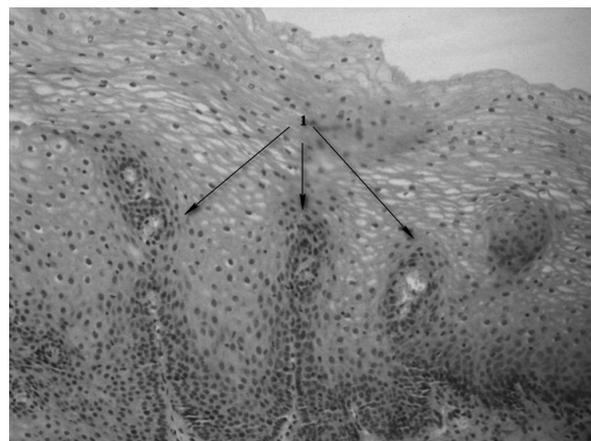


Рис. 6. Увеличенные соединительнотканые сосочки с полнокровными сосудами на верхушках (I) в слизистой пищевода пациента с ГЭРБ и СОАГС. Окраска гематоксилином и эозином.  $\times 100$

Fig. 6. Connective tissue papillary elongation with dilated capillaries (I) on the apices in the esophageal mucosa of a patient with GERD and OSAHS. Hematoxyline and eosine stain.  $\times 100$

При количественной оценке изменений в биоптатах пищевода обследуемых пациентов с помощью морфометрического анализа получены значимые различия между группами при сравнении показателей толщины эпителия пищевода и высоты соединительнотканых сосочков по критерию Краскела–Уоллиса (табл. 1).

Т а б л и ц а 1. Толщина эпителия пищевода и высота соединительнотканых сосочков у пациентов исследуемых групп

Table 1. Thickness of the epithelium of the esophagus and the height of the connective tissue papillae in patients of the studied groups

Показатель	Группа 1	Группа 2	Группа 3	Группа 4	Критерий Краскела–Уоллиса, $p$ -уровень
Толщина эпителия пищевода, мкм	312 (264; 360)*	372 (324; 414) <sup>#&amp;</sup>	192 (180; 228)	186 (168; 192)	$H = 133,508$ , $p = 0,000$
Высота соединительнотканых сосочков, мкм	144 (120; 168)*	156 (120; 216) <sup>#</sup>	108 (90; 120) <sup>^</sup>	72 (60; 84)	$H = 71,5$ , $p = 0,000$

П р и м е ч а н и е. Статистически значимые отличия ( $p < 0,05$ ): \* – группы 1 от групп 3 и 4; # – группы 2 от групп 3 и 4; & – группы 1 от группы 2; ^ – группы 3 от группы 4.

При последующем апостериорном сравнении по методу Данна–Бонферрони выявлены следующие значимые различия: у пациентов, имевших ГЭРБ (группы 1 и 2), толщина эпителия пищевода была статистически значимо выше, чем у пациентов, относящихся к группам 3 и 4, что подтверждает наличие данного заболевания у обследуемых лиц ( $p_{1-3} = 0,000$ ,  $p_{1-4} = 0,000$ ,  $p_{2-3} = 0,000$ ,  $p_{2-4} = 0,000$ ). Однако у пациентов с ГЭРБ в сочетании с СОАГС (группа 2) отмечалось более выраженное увеличение толщины эпителия пищевода, чем у лиц с изолированной ГЭРБ ( $p_{1-2} = 0,042$ ).

Наибольшая высота соединительнотканых сосочков зарегистрирована в группе 2, хотя статистически значимых различий между группами 1 и 2 не выявлено. В то же время обнаружены статистически значимые различия между данными группами и группами 3 и 4 – высота соединительнотканых сосочков в группах 1 и 2 была выше, чем в группах 3 и 4 ( $p_{1-3} = 0,013$ ,  $p_{1-4} = 0,000$ ,  $p_{2-3} = 0,0001$ ,  $p_{2-4} = 0,000$ ).

Полученные данные отражают изменения в слизистой оболочке пищевода, обусловленные наличием ГЭРБ, однако не в полной мере характеризуют процессы дистрофии и дезорганизации эпителиальной ткани.

С целью определения выраженности дистрофических процессов в слизистой оболочке пациентов исследуемых групп было проведено измерение межъядерных расстояний в эпителии пищевода на уровне поверхностного, шиповатого и базального слоев (табл. 2).

Т а б л и ц а 2. Межъядерные расстояния в эпителии пищевода пациентов исследуемых групп

Table 2. Internuclear distances in the epithelium of the esophagus in patients of the studied groups

Межъядерные расстояния, мкм	Группа 1	Группа 2	Группа 3	Группа 4	Критерий Краскела–Уоллиса, $p$ -уровень
Поверхностный слой эпителия пищевода	9 (7; 10)*	8 (7; 10)#	6 (5; 6,5)	6 (5; 7)	$H = 57,57, p = 0,000$
Шиповатый слой эпителия пищевода	7 (6; 8)*	8 (7; 9)#&	6 (5; 7)	6 (5; 7)	$H = 47,251, p = 0,000$
Базальный слой эпителия пищевода	4 (3; 5)*	4 (3; 5)#	2 (1; 3)	2 (2; 3)	$H = 103,312, p = 0,000$

П р и м е ч а н и е. Статистически значимые отличия ( $p < 0,05$ ): \* – группы 1 от групп 3 и 4; # – группы 2 от групп 3 и 4; & – группы 1 от группы 2.

Анализ межъядерных расстояний поверхностного слоя показал, что у пациентов групп 1 и 2 данные показатели значительно превышают таковые у пациентов групп 3 и 4 ( $p_{1-3} = 0,000, p_{1-4} = 0,000, p_{2-3} = 0,000, p_{2-4} = 0,000$ ). Увеличенные межъядерные расстояния в поверхностном слое эпителия пациентов с ГЭРБ и ГЭРБ в сочетании с СОАГС, вероятно, обусловлены повреждающим действием рефлюксата и отражают такие процессы, протекающие в эпителии, как баллонная дистрофия, внутриклеточный отек, расширения межклеточных пространств, дезорганизация ткани.

Межъядерные расстояния в шиповатом слое эпителия пациентов групп 1 и 2 также превышали таковые в группах 3 и 4 ( $p_{1-3} = 0,034, p_{1-4} = 0,001, p_{2-3} = 0,000, p_{2-4} = 0,000$ ). Кроме того, обнаружено, что у пациентов группы 2 межъядерные расстояния в шиповатом слое эпителия были больше, чем у пациентов группы 1 ( $p = 0,048$ ).

У лиц группы 1 межъядерные расстояния в шиповатом слое меньше, чем в поверхностном. Данное явление объясняется тем, что естественным образом наиболее подвержен воздействию рефлюксата поверхностный слой эпителия слизистой пищевода, в шиповатом слое наблюдаются несколько менее выраженные дистрофические процессы, соответственно ширина межъядерных расстояний также меньше.

У пациентов группы 2 межъядерные расстояния в шиповатом слое практически сопоставимы с таковыми в поверхностном слое эпителия. Это свидетельствует о том, что процессы дезорганизации эпителия у лиц с ГЭРБ в сочетании с СОАГС выражены не только в поверхностном слое, но и захватывают более глубокий шиповатый слой. Именно в последнем, как правило, и экспрессируется Е-кадгерин [15]. Вероятно, предполагаемая потеря Е-кадгерина, которая выявлена нами ранее у пациентов этой группы, способствует нарушению гистоархитектоники в данном слое эпителия [16].

Базальный слой эпителия – самый глубокий. Он располагается на базальной мембране и представлен молодыми делящимися клетками, вследствие чего расстояния между ядрами клеток в данном слое должны быть наименьшими. Однако при анализе этих расстояний у пациентов исследуемых групп также были получены значимые различия ( $p_{1-3} = 0,000, p_{1-4} = 0,000, p_{2-3} = 0,000, p_{2-4} = 0,000$ ). Наличие увеличенных межъядерных расстояний в базальном слое эпителия у лиц с ГЭРБ и ГЭРБ в сочетании с СОАГС, в отличие от пациентов групп 3 и 4, объясняется развитием гиперплазии этой зоны, которая возникает в ответ на повреждение и является характерным признаком ГЭРБ [17].

**Заключение.** У пациентов с ГЭРБ, в отличие от лиц группы сравнения и пациентов с СОАГС, слизистая оболочка нижней трети пищевода характеризуются утолщением эпителия, более выраженными межъядерными расстояниями в поверхностном, шиповатом и базальном слоях эпителия, большей высотой соединительнотканых сосочков.

Пациенты с ГЭРБ в сочетании с СОАГС, как и пациенты с ГЭРБ, также отличались от лиц группы сравнения и пациентов с СОАГС по толщине эпителия, высоте соединительнотканых сосочков, межъядерным расстояниям. Однако у пациентов с ГЭРБ, ассоциированной с СОАГС, в отличие от лиц с ГЭРБ, наблюдались большая толщина эпителия и большие межъядерные расстояния в шиповатом слое эпителия, что может указывать на более выраженные процессы дезорганизации эпителия и потерю функционирующего E-кадгерина, участвующего в формировании межклеточных контактов в данной зоне.

Увеличение высоты соединительнотканых сосочков в группе пациентов с ГЭРБ в сочетании с СОАГС сопровождается расширением и полнокровием сосудов на верхушках, чего не наблюдается в группе лиц с ГЭРБ и у пациентов других групп. Данное наблюдение может указывать на развитие микроангиопатии в слизистой пищевода при ГЭРБ, ассоциированной с СОАГС.

У лиц с ГЭРБ в сочетании с СОАГС наблюдаются склеротические изменения в слизистой оболочке пищевода, что не выражено у пациентов других групп. Данное явление, предположительно обусловленное повышением содержания профибротических цитокинов у пациентов с ГЭРБ под влиянием хронической интермиттирующей гипоксии при СОАГС, может способствовать малосимптомному течению заболевания [18].

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

### Список использованных источников

1. Балукова, Е. В. Возможности препаратов висмута в лечении гастроэзофагеальной рефлюксной болезни / Е. В. Балукова // *Терапия*. – 2017. – № 7. – С. 102–108.
2. Epidemiology of gastro-oesophageal reflux disease: a systematic review / J. Dent [et al.] // *Gut*. – 2005. – Vol. 54, N 5. – P. 710–717. <http://doi.org/10.1136/gut.2004.051821>
3. Шелкович, Ю. Я. Особенности клинического течения эндоскопически позитивной гастроэзофагеальной рефлюксной болезни у пациентов с синдромом обструктивного апноэ/гипопноэ сна / Ю. Я. Шелкович, В. И. Шишко // *Лечеб. дело*. – 2018. – № 3. – С. 22–27.
4. Шелкович, Ю. Я. Коллаген IV типа как биомаркер повреждения слизистой оболочки пищевода у пациентов с гастроэзофагеальной рефлюксной болезнью и синдромом обструктивного апноэ/гипопноэ сна / Ю. Я. Шелкович, В. И. Шишко, Я. А. Колодзейский // *Журн. Гродн. гос. мед. ун-та*. – 2019. – Т. 17, № 2. – С. 159–163.
5. Шишко, В. И. Гастроэзофагеальная рефлюксная болезнь: классификация, клиника, диагностика, принципы лечения (обзор литературы, ч. 2) / В. И. Шишко // *Журн. Гродн. гос. мед. ун-та*. – 2015. – № 2. – С. 15–23.
6. The histologic squamo-oxynitic gap: an accurate and reproducible diagnostic marker of gastroesophageal reflux disease / P. Chandrasoma [et al.] // *Am. J. Surg. Pathol.* – 2010. – Vol. 34, N 11. – P. 1574–1581. <http://doi.org/10.1097/PAS.0b013e3181f06990>
7. Зверева, С. И. Гастроэзофагеальная рефлюксная болезнь / С. И. Зверева, Е. Ю. Еремина // *Мед. алфавит. Гастроэнтерология*. – 2013. – Т. 1, № 2. – С. 4–8.
8. Expert consensus document: advances in the physiological assessment and diagnosis of GERD / E. Savarino [et al.] // *Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol.* – 2017. – Vol. 14, N 11. – P. 665–676. <http://doi.org/10.1038/nrgastro.2017.130>
9. Modern diagnosis of GERD: the Lyon consensus / C. P. Gyawali [et al.] // *Gut*. – 2018. – Vol. 67, N 7. – 1351–1362. <http://doi.org/10.1136/gutjnl-2017-314722>
10. Результаты многоцентрового наблюдательного исследования по применению международного опросника GerdQ для диагностики гастроэзофагеальной рефлюксной болезни / В. О. Кайбышева [и др.] // *Рос. журн. гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии*. – 2013. – Т. 23, № 5. – С. 15–24.
11. Касымова, О. Д. Диагностика синдрома обструктивного апноэ сна в условиях общесоматического стационара / О. Д. Касымова // *Клин. медицина Казахстана*. – 2011. – Т. 3–4, № 22–23. – С. 12–14.
12. Гржибовский, А. М. Анализ трех и более независимых групп количественных данных / А. М. Гржибовский // *Экология человека*. – 2008. – № 3. – С. 50–58.
13. Гастроэзофагеальная рефлюксная болезнь – лидер кислотозависимой патологии верхних отделов желудочно-кишечного тракта / И. В. Маев [и др.] // *Consilium Medicum. Гастроэнтерология*. – 2012. – № 1. – С. 18–24.
14. Isolation and characterization of human esophageal microvascular endothelial cells: mechanisms of inflammatory activation / P. Rafiee [et al.] // *Am. J. Physiol. – Gastrointest. Liver Physiol.* – 2003. – Vol. 285, N 6. – P. G1277–G1292. <https://doi.org/10.1152/ajpgi.00484.2002>
15. Esophageal barrier function and tight junction expression in healthy subjects and patients with gastroesophageal reflux disease: functionality of esophageal mucosa exposed to bile salt and trypsin *in vitro* / E. V. Björkman [et al.] // *Scand. J. Gastroenterol.* – 2013. – Vol. 48, N 10. – P. 1118–1126. <http://doi.org/10.3109/00365521.2013.828772>
16. Шелкович, Ю. Я. Роль E-кадгерина в оценке повреждения слизистой оболочки пищевода у пациентов с гастроэзофагеальной рефлюксной болезнью, ассоциированной с синдромом обструктивного апноэ/гипопноэ сна / Ю. Я. Шелкович // *Рос. журн. гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии*. – 2019. – Т. 29, № 3. – С. 25–32.

17. Гаргин, В. В. Значимость гистологических данных в диагностике гастроэзофагеальной рефлюксной болезни / В. В. Гаргин, В. В. Сакал // Медицина сьогодні і завтра. – 2012. – Т. 56–57, № 3–4. – С. 26–29.
18. Шелкович, Ю. Я. Влияние синдрома обструктивного апноэ/гипопноэ сна на уровни провоспалительных и профибротических цитокинов у пациентов с гастроэзофагеальной рефлюксной болезнью / Ю. Я. Шелкович // Проблемы здоровья и экологии. – 2019. – № 2. – С. 64–70.

## References

- Balukova E. V. Possibilities of bismuth drugs in the treatment of gastroesophageal reflux disease. *Terapiya = Therapy*, 2017, no. 7, pp. 102–108 (in Russian).
- Dent J., El-Serag H. B., Wallander M. A., Johansson S. Epidemiology of gastro-oesophageal reflux disease: a systematic review. *Gut*, 2005, vol. 54, no. 5, pp. 710–717. <http://doi.org/10.1136/gut.2004.051821>
- Shelkovich Yu. Ya., Shishko V. I. Clinical features of endoscopy-positive gastroesophageal reflux disease in patients with obstructive sleep apnea/hypopnea syndrome. *Lechebnoe delo* [Medical business], 2018, no. 3, pp. 22–27 (in Russian).
- Shelkovich Yu. Ya., Shishko V. I., Kolodzeiskii Ya. A. Collagen type IV as biomarker of esophageal mucosa damage in patient with gastroesophageal reflux disease and obstructive sleep apnea/hypopnea syndrome. *Zhurnal Grodnenskogo gosudarstvennogo meditsinskogo universiteta = Journal of the Grodno State Medical University*, 2019, vol. 17, no. 2, pp. 159–163 (in Russian).
- Shishko V. I., Petrulevich Y. Y. Gastroesophageal reflux disease: classification, clinic, diagnosis, principles of treatment (literature review, part 2. *Zhurnal Grodnenskogo gosudarstvennogo meditsinskogo universiteta = Journal of the Grodno State Medical University*, 2015, no. 2, pp. 15–23 (in Russian).
- Chandrasoma P., Wijetunge S., Demeester S. R., Hagen J., Demeester T. R. The histologic squamo-oxyntic gap: an accurate and reproducible diagnostic marker of gastroesophageal reflux disease. *American Journal of Surgical Pathology*, 2010, vol. 34, no. 11, pp. 1574–1581. <http://doi.org/10.1097/PAS.0b013e3181f06990>
- Zvereva S. I., Eremina E. Yu. Gastroesophageal reflux disease. *Meditsinskii alfavit* [Medical alphabet], 2013, vol. 1, no. 2, pp. 4–8 (in Russian).
- Savarino E., Bredenoord A., Fox M., Pandolfino J., Roman S., Gyawali C. Expert consensus document: advances in the physiological assessment and diagnosis of GERD. *Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology*, 2017, vol. 14, no. 11, pp. 665–676. <http://doi.org/10.1038/nrgastro.2017.130>
- Gyawali C. P., Kahrilas P. J., Savarino E., Zerbib F., Mion F., Smout A. J. P. M. [et al.]. Modern diagnosis of GERD: the Lyon consensus. *Gut*, 2018, vol. 67, no. 7, pp. 1351–1362. <http://doi.org/10.1136/gutjnl-2017-314722>
- Kaibysheva V. O., Kucheryavyy Yu. A., Trukhmanov A. S., Storonova O. A., Kon'kov M. Yu., Maev I. V., Ivashkin V. T. The results of a multicenter observational study about the use of the GerdQ international questionnaire for the diagnosis of gastroesophageal reflux disease. *Rossiiskii zhurnal gastroenterologii, gepatologii, koloproktologii = Russian journal of gastroenterology, hepatology, coloproctology*, 2013, vol. 23, no. 5, pp. 15–24 (in Russian).
- Kasymova O. D. Diagnosis of the syndrome of obstructive sleep apnea in a general hospital. *Klinicheskaya meditsina Kazakhstana = Journal of clinical medicine of Kazakhstan*, 2011, vol. 3–4, no. 22–23, pp. 12–14 (in Russian).
- Grzhibovskii A. M. Analysis of three or more independent groups of quantitative data. *Ekologiya cheloveka = Human ecology*, 2008, no. 3, pp. 50–58 (in Russian).
- Maev I. V., Samsonov A. A., Belyi P. A., Lebedeva E. G. Gastroesophageal reflux disease is the leader of acid-dependent pathology of the upper gastrointestinal tract. *Consilium Medicum. Gastroenterologiya* [Consilium Medicum. Gastroenterology], 2012, no. 1, pp. 18–24 (in Russian).
- Rafiee P., Ogawa H., Heidemann J., Li M. S., Aslam M., Lamirand T. H. [et al.]. Isolation and characterization of human esophageal microvascular endothelial cells: mechanisms of inflammatory activation. *American Journal of Physiology – Gastrointestinal and Liver Physiology*, 2003, vol. 285, no. 6, pp. G1277–G1292. <https://doi.org/10.1152/ajpgi.00484.2002>
- Björkman E. V., Edebo A., Oltean M., Casselbrant A. Esophageal barrier function and tight junction expression in healthy subjects and patients with gastroesophageal reflux disease: functionality of esophageal mucosa exposed to bile salt and trypsin *in vitro*. *Scandinavian Journal of Gastroenterology*, 2013, vol. 48, no. 10, pp. 1118–1126. <http://doi.org/10.3109/00365521.2013.828772>
- Shelkovich Yu. Ya. The role of E-cadherin in the assessment of esophageal mucosal damage in patients with gastroesophageal reflux disease associated with obstructive sleep apnea/hypopnea syndrome. *Rossiiskii zhurnal gastroenterologii, gepatologii, koloproktologii = Russian journal of gastroenterology, hepatology, coloproctology*, 2019, vol. 29, no. 3, pp. 25–32 (in Russian).
- Gargin V. V., Sakal V. V. Significance of histological data in the diagnosis of gastroesophageal reflux disease. *Medicina s'ogodni i zavtra* [Medicine today and tomorrow], 2012, vol. 56–57, no. 3–4, pp. 26–29 (in Russian).
- Shelkovich Yu. Ya. The influence of obstructive sleep apnea/hypopnea syndrome on the levels of proinflammatory and profibrotic cytokines in patients with gastroesophageal reflux disease. *Problemy zdorov'ya i ekologii* [Health and environmental issues], 2019, no. 2, pp. 64–70 (in Russian).

### Информация об авторах

*Шелкович Юлия Яновна* – ассистент. Гродненский государственный медицинский университет (ул. Горького, 80, 230015, г. Гродно, Республика Беларусь). E-mail: lazarilin@mail.ru

*Шишко Виталий Иосифович* – канд. мед. наук, доцент, проректор по лечебной работе. Гродненский государственный медицинский университет (ул. Горького, 80, 230015, г. Гродно, Республика Беларусь). E-mail: vshyshko@mail.ru

*Мацюк Ярослав Романович* – д-р биол. наук, профессор. Гродненский государственный медицинский университет (ул. Горького, 80, 230015, г. Гродно, Республика Беларусь). E-mail: zimatkin@grsmu.by

*Басинский Виктор Анатольевич* – д-р мед. наук, профессор, заведующий кафедрой. Гродненский государственный медицинский университет (ул. Горького, 80, 230015, г. Гродно, Республика Беларусь). E-mail: basinsk@gmail.com

### Information about the authors

*Yuliya Y. Shaukovich* – Assistant. Grodno State Medical University (80, Gorky Str., 230015, Grodno, Republic of Belarus). E-mail: lazarilin@mail.ru

*Vitali I. Shyshko* – Ph. D. (Med.), Assistant Professor, Vice-rector for medical work. Grodno State Medical University (80, Gorky Str., 230015, Grodno, Republic of Belarus). E-mail: vshyshko@mail.ru

*Yaroslav R. Matsiuk* – D. Sc. (Biol.), Professor. Grodno State Medical University (80, Gorky Str., 230015, Grodno, Republic of Belarus). E-mail: zimatkin@grsmu.by

*Victor A. Basinski* – D. Sc. (Med.), Professor, Head of the Department. Grodno State Medical University (80, Gorky Str., 230015, Grodno, Republic of Belarus). E-mail: basinsk@gmail.com

**С. В. Жуковская, Л. Ф. Можейко**

*Белорусский государственный медицинский университет, Минск, Республика Беларусь*

## **ВЛИЯНИЕ РАЗЛИЧНЫХ СХЕМ КОНТРОЛИРУЕМОЙ ОВАРИАЛЬНОЙ СТИМУЛЯЦИИ НА ОСОБЕННОСТИ ТЕЧЕНИЯ СИНДРОМА ГИПЕРСТИМУЛЯЦИИ ЯИЧНИКОВ В ПРОГРАММАХ ЭКСТРАКОРПОРАЛЬНОГО ОПЛОДОТВОРЕНИЯ**

**Аннотация.** Выбор схемы контролируемой овариальной стимуляции (КОС) оказывает существенное влияние на особенности течения синдрома гиперстимуляции яичников (СГЯ) у женщин, включенных в программы вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ).

Цель исследования – изучить влияние различных схем КОС на клинико-лабораторные параметры СГЯ, проанализировав эмбриологические показатели эффективности гормональной стимуляции, особенности течения СГЯ и исходы экстракорпорального оплодотворения.

Работа проведена на базе учреждения здравоохранения «Центр репродуктивной медицины». В исследование было включено 718 супружеских пар. Женщины, у которых развился СГЯ ( $n = 103$ ), были разделены на две группы: в 1-й группе ( $n = 60$ ) использовали схему КОС с агонистами гонадотропин-рилизинг гормона (аГнРГ); во 2-й группе ( $n = 43$ ) – схему с антагонистами ГнРГ (антГнРГ). Изучали эмбриологические параметры, динамику концентрации половых гормонов, показатели состояния системы гемостаза и исходы ВРТ.

Установлено, что у женщин с СГЯ, возникшим на фоне проведения КОС с использованием аГнРГ (1-я группа), статистически значимо выше концентрация эстрадиола в день переноса эмбрионов, а также выше содержание прогестерона, чем во 2-й группе. Отмечены более выраженные изменения состояния системы гемостаза в 1-й исследуемой группе: статистически значимое возрастание концентрации фибриногена и Д-димеров на фоне снижения активности первичных физиологических антикоагулянтов (антитромбина III и протеина С). При использовании схемы стимуляции с аГнРГ чаще развивался СГЯ ранней формы, что требовало отмены переноса эмбрионов в полость матки с целью предотвращения развития СГЯ тяжелой и критической степени.

Таким образом, СГЯ, возникший на фоне назначения аГнРГ в ходе овариальной стимуляции, характеризуется более тяжелым течением, что обусловлено гиперэстрогенией и выраженным гиперкоагуляторным сдвигом, а также более высокой частотой встречаемости случаев отмены переноса эмбрионов вследствие развития ранней формы СГЯ.

**Ключевые слова:** бесплодие, вспомогательные репродуктивные технологии, экстракорпоральное оплодотворение, синдром гиперстимуляции яичников, прогнозирование

**Для цитирования:** Жуковская, С. В. Влияние различных схем контролируемой овариальной стимуляции на особенности течения синдрома гиперстимуляции яичников в программах экстракорпорального оплодотворения / С. В. Жуковская, Л. Ф. Можейко // Вес. Нац. акад. навук Беларусі. Сер. мед. навук. – 2019. – Т. 16, № 4. – С. 443–453. <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2019-16-4-443-453>

**S. V. Zhukovskaya, L. F. Mozhejko**

*Belarusian State Medical University, Minsk, Republic of Belarus*

## **INFLUENCE OF CONTROLLED OVARIAN STIMULATION PROTOCOLS ON OVARIAN HYPERSTIMULATION SYNDROME PATTERNS DURING *IN VITRO* FERTILIZATION PROGRAMS**

**Abstract.** Different protocols of controlled ovarian stimulation have a significant influence on ovarian hyperstimulation syndrome (OHSS) patterns in women who undergo *in vitro* fertilization programs (IVF).

The objective of this research was to evaluate the impact of different ovarian stimulation protocols on various clinical and laboratory parameters of OHSS, such as embryologic characteristics, hormonal changes, hemostasis, and IVF outcomes.

The study was made on the basis of the MPUE “Center of Reproductive Medicine” (Minsk, Belarus) and included, in total, 718 women who underwent IVF for infertility treatment. 103 patients developed OHSS and were divided into two groups based on hormonal stimulation protocols: Group 1 included 60 women who were stimulated with gonadotrophin releasing hormone (GnRH) agonists protocol; Group 2 consisted of 43 women who were prescribed GnRH antagonists during ovarian stimulation.

In Group 1 (ovarian stimulation protocol with GnRH agonists), we established significantly higher serum concentrations of estradiol and progesterone during IVF and more marked hemostatic shift towards hypercoagulation: statistically significant elevation of fibrinogen and D-dimes simultaneously with decrease in the primary anticoagulants (antithrombin III and protein

C) functional activity. Also, Group 1 had a significantly higher incidence of the early form of OHSS and embryo transfer cancellation caused by a high risk of severe OHSS.

OHSS that has developed after the GnRH agonists protocol of controlled ovarian stimulation is associated with higher risks of complications and lower chances of successful pregnancy, which is explained by hyperestrogenic state, elevated progesterone levels, marked hypercoagulation, and higher incidence of early OHSS, which leads to the necessity of embryo transfer cancellation.

**Keywords:** infertility, assisted reproductive technologies, *in vitro* fertilization, ovarian hyperstimulation syndrome, prognosis

**For citation:** Zhukovskaya S. V., Mozhejko L. F. Influence of controlled ovarian stimulation protocols on ovarian hyperstimulation syndrome patterns during *in vitro* fertilization programs. *Vesti Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seriya meditsinskikh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2019, vol. 16, no. 4, pp. 443–453 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2019-16-4-443-453>

**Введение.** Одной из наиболее важных медицинских и социально-экономических проблем в нашей стране в настоящее время является бесплодие, от которого страдает 16–20 % супружеских пар. Это крайне неблагоприятно сказывается на демографической ситуации и может стать предпосылкой устойчивой депопуляции [1].

Актуальность изучения безопасности и эффективности вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ) обусловлена их широким распространением как во всем мире, так и в Республике Беларусь в частности. ВРТ включают совокупность наиболее прогрессивных и эффективных методов преодоления бесплодия, таких как экстракорпоральное оплодотворение (ЭКО), интрацитоплазматическая инъекция сперматозоидов, внутриматочная инсеминация, донорство половых клеток, криоконсервация половых клеток и эмбрионов, суррогатное материнство. Распространенность методов ВРТ неуклонно возрастает во всем мире: согласно данным, представленным в отчете Европейского общества репродукции человека и эмбриологии (ESHRE), в Республике Беларусь ежегодно проводится более 2000 процедур ЭКО [2, 3].

Синдром гиперстимуляции яичников (СГЯ) – потенциально летальное ятрогенное осложнение контролируемой овариальной стимуляции (КОС) в программах ЭКО. КОС используют с целью получения нескольких зрелых яйцеклеток для последующей фертилизации в условиях *in vitro*. Известно, что применение «агрессивных» схем овариальной стимуляции значительно повышает риск развития указанного осложнения: согласно статистике, частота СГЯ легкой степени достигает 20–33 % после проведения всех циклов ЭКО; СГЯ средней степени тяжести и тяжелая форма отмечаются в 1–5 % случаев [4–6].

Данное осложнение является результатом избыточного ответа яичников на экзогенное назначение гормональных лекарственных средств (препараты фолликулостимулирующего гормона (ФСГ), хорионического гонадотропина человека и др.) и включает широкий спектр клинико-лабораторных проявлений – от умеренно выраженного абдоминального дискомфорта, не требующего специфической терапии, до тяжелой и критической форм, которые проявляются развитием тромбоэмболических осложнений, полисерозитов, полиорганной недостаточности, респираторного дистресс-синдрома взрослых и требуют длительной терапии в условиях отделения интенсивной терапии и реанимации.

В основе проводимой КОС лежит использование гонадотропных препаратов с целью экзогенной стимуляции одновременного созревания яйцеклеток в нескольких фолликулах. В настоящее время широкое применение нашли как препараты рекомбинатного ФСГ, так и высокоочищенные препараты, полученные из мочи женщин в период менопаузы [7]. Дополнительно, с целью предотвращения преждевременного пикового выброса в кровь лютеинизирующего гормона (ЛГ), назначают агонисты либо антагонисты гонадотропин-рилизинг гормона (аГнРГ и антГнРГ соответственно) и в зависимости от выбора препарата выделяют «протокол/схему стимуляции с агонистами ГнРГ» и «протокол/схему стимуляции с антагонистами ГнРГ». Затем вводят триггер финального дозревания ооцитов (ФДО) (золотым стандартом на протяжении многих лет является назначение хорионического гонадотропина человека) [8, 9].

Согласно данным, представленным в наиболее актуальном обзоре в базе Кохрейн, сравнительный анализ эффективности и безопасности применения различных протоколов КОС показал, что для протокола КОС с антГнРГ характерна более низкая вероятность развития СГЯ (OR 0,61;

95 % ДИ 0,51–0,72; 36 РКІ;  $n = 7944$ ) и уменьшение частоты случаев отмены переноса эмбрионов (ПЭ) (OR 0,47; 95% ДИ 0,32–0,69; 19 РКІ;  $n = 4256$ ). В то же время не отмечено статистически значимых различий по кумулятивной частоте живорождения (OR 1,02; 95 % ДИ 0,85–1,23; 12 РКІ;  $n = 2303$ ) и по частоте прерываний беременности (OR 1,03; 95 % ДИ 0,82–1,29; 34 РКІ;  $n = 7082$ ), однако приведенные данные касались всех пациентов, а не только женщин с развившимся СГЯ [10].

Важно отметить, что в настоящее время отсутствуют актуальные публикации с результатами сравнительного анализа клинико-лабораторных особенностей течения СГЯ у женщин после применения различных схем КОС, данные о сравнительной оценке изменений концентрации половых гормонов, функции свертывающей и противосвертывающей систем крови, а также о преобладании ранней либо поздней формы синдрома в зависимости от использованного протокола КОС. Практическая значимость настоящего исследования обусловлена необходимостью проведения подобного сравнительного анализа особенностей течения СГЯ после различных схем гормональной стимуляции, так как это позволит более дифференцированно подходить как к профилактике данного осложнения, так и к его лечению.

Цель исследования – сравнительный анализ клинико-лабораторных особенностей течения синдрома гиперстимуляции яичников у женщин, включенных в программы вспомогательных репродуктивных технологий, в зависимости от использованной схемы контролируемой овариальной стимуляции.

Задачи исследования:

- 1) оценить параметры КОС;
- 2) изучить эмбриологические показатели эффективности стимуляции;
- 3) проанализировать динамику концентрации эстрадиола и прогестерона при проведении ЭКО;
- 4) изучить особенности состояния системы гемостаза;
- 5) оценить исходы при использовании программ ВРТ у женщин с СГЯ.

**Материалы и методы исследования.** В ходе работы проведено клинико-лабораторное обследование 718 женщин, обратившихся в МЧУП «Центр репродуктивной медицины» (г. Минск, Беларусь) по поводу бесплодия с целью проведения программ ЭКО.

Перед проведением процедуры ЭКО все пациенты прошли обследование в соответствии с Постановлением Министерства здравоохранения Республики Беларусь от 01.06.2012 г. № 54 «О некоторых вопросах применения вспомогательных репродуктивных технологий» [11]. На 2–5-й дни менструального цикла производили забор крови для определения содержания ФСГ, ЛГ, тиреотропного гормона и пролактина. До начала КОС у всех обследуемых женщин в сыворотке крови определяли уровни антимюллера гормона и антител к тиреопероксидазе. Кроме того, у всех пациенток оценивали содержание эстрадиола ( $E_2$ ) в сыворотке крови в день назначения триггера ФДО, в день ПЭ и на 5-й день после ПЭ. Дополнительно измеряли содержание прогестерона ( $P_4$ ) в день введения триггера ФДО и в день ПЭ в полость матки.

Ультразвуковое исследование (УЗИ) органов малого таза выполняли на аппарате Aloka Pro-sound Alpha 6 (Япония) с использованием трансвагинального датчика с частотой 7 МГц. Определение гормонов в сыворотке крови проводили в клинико-диагностической лаборатории МЧУП «Центр репродуктивной медицины», имеющей сертификат системы менеджмента качества ISO-9001. Концентрацию гормонов в сыворотке крови определяли на иммуноферментном анализаторе Thermo Fisher Scientific, используя иммуноферментные тест-системы (ELISA) производства компании DRG Diagnostics (Германия).

Исследование гемостаза включало: регистрацию активированного частичного тромбопластинового времени (АЧТВ); определение протромбинового времени (ПВ) с расчетом активности факторов протромбинового комплекса и международного нормализованного отношения (МНО) с учетом чувствительности тромбопластина; оценку содержания плазменного фибриногена, коагулируемого тромбином. Содержание Д-димеров в сыворотке крови определяли с помощью моноклональных антител. С целью оценки функции противосвертывающей системы крови оценивали активность первичных физиологических антикоагулянтов: антитромбина III (АТ III) и протеина С.

Исследования гемостаза проводили трижды: до начала проведения КОС, в день ПЭ либо его отмены и на 5-й день после ПЭ в полость матки либо его отмены.

Изначально было сформировано две группы в зависимости от схемы проводимой КОС. В первую группу вошли 359 женщин, которым для КОС применяли аГнРГ – трипторелина ацетат в дозе по 0,1 мг/сут с 21-го дня менструального цикла в комбинации с фоллитропином альфа с 3-го дня следующего менструального цикла до назначения триггера ФДО. В качестве триггера ФДО был использован хоригонадотропин альфа 6500 МЕ. Вторую группу составили 359 женщин, у которых применялась схема КОС с использованием антГнРГ; с 3-го дня менструального цикла ежедневно вводили фоллитропин альфа, а при достижении фолликулами диаметра 14 мм дополнительно назначали антГнРГ (цетрореликс 0,25 мг/сут) до дня введения триггера ФДО, в качестве которого был использован хоригонадотропин альфа 6500 МЕ. Триггер ФДО в обеих группах назначали при достижении фолликулами диаметра более 17 мм. Получение ооцитов из фолликулярной жидкости осуществлялось путем трансвагинальной пункции фолликулов под контролем УЗИ с применением внутривенной анестезии через 34–36 ч после введения триггера ФДО. Далее *in vitro* проводили оплодотворение и культивацию эмбрионов до стадии бластоцисты. На эмбриологическом этапе зрелые ооциты маркировали и помещали в специальную среду для культивирования, оценивали их качество и степень зрелости. Преинкубацию, оплодотворение ооцитов, а также культивирование эмбрионов осуществляли в средах для культивирования фирмы ORIGIO (Дания).

Перенос двух эмбрионов в полость матки проводили на 5-е сутки культивирования с помощью внутриматочного катетера Wallace. Оставшиеся бластоцисты высокого качества криоконсервировали методом витрификации с целью их использования в последующих программах ВРТ. ПЭ в полость матки осуществляли на 5-е сутки после оплодотворения под контролем УЗИ. Для посттрансферной гестагенной поддержки использовали микронизированный прогестерон (600 мг/сут вагинально). Беременность диагностировали на 12–14-е сутки после ПЭ путем определения содержания  $\beta$ -субъединицы хорионического гонадотропина человека в сыворотке крови, а также на 21-е сутки после ПЭ по данным трансвагинального УЗИ органов малого таза.

Нами было выделено две группы женщин, у которых развился СГЯ в ходе проведения программ экстракорпорального оплодотворения. В 1-ю исследуемую группу вошли 60 пациенток, у которых СГЯ развился после применения схемы КОС с аГнРГ, во 2-ю – 43 женщины с СГЯ на фоне применения КОС с антГнРГ.

Следует отметить, что у всех пациентов отмечался СГЯ средней степени тяжести; развитие СГЯ тяжелой и критической степени тяжести было предотвращено за счет своевременного принятия комплекса лечебно-профилактических мер, таких как отмена ПЭ в полость матки, проведение инфузионной терапии с использованием коллоидных и кристаллоидных растворов, назначение низкомолекулярных гепаринов с целью профилактики тромбоэмболических осложнений. Все пациенты с СГЯ средней степени тяжести находились под динамическим наблюдением в амбулаторных условиях, включающим физикальный осмотр, УЗИ органов малого таза, мониторинг лабораторных показателей. Динамическое наблюдение проводили совместно с акушером-гинекологом и анестезиологом-реаниматологом.

Диагностика СГЯ была основана на рекомендациях руководства практического комитета «Американского Общества Репродуктивной Медицины» (табл. 1) [5].

Критерием раннего СГЯ, согласно руководству практического комитета «Американского Общества Репродуктивной Медицины», считали развитие симптомов в первые 9 сут после введения триггера ФДО, поздний СГЯ диагностировали при появлении признаков спустя 9 сут после введения триггера ФДО.

Для статистической обработки полученных данных использовали персональную ЭВМ со следующим программным обеспечением: MS Office Excel 2013, надстройка AtteStat для MS Excel, лицензионные пакеты программ MedCalc и Statistica 10.0.

Таблица 1. Критерии диагностики и классификация степени тяжести синдрома гиперстимуляции яичников  
Table 1. Ovarian hyperstimulation syndrome diagnostic criteria and severity grades

Степень тяжести	Клинические и лабораторные критерии
Легкая	Абдоминальный дискомфорт боли в животе незначительной интенсивности, диаметр яичников <8 см
Средняя	Боли в животе средней интенсивности, тошнота и/или рвота, УЗ-признаки асцита, диаметр яичников 8–12 см
Тяжелая	Клинические признаки асцита (иногда – гидроторакс), олигурия, гемоконцентрация, гематокрит >41 %, гипопропротеинемия, диаметр яичников >12 см
Критическая	Напряженный асцит или массивный гидроторакс, гематокрит >55 %, лейкоцитоз >25 000/мл, олигурия либо анурия, тромбоэмболические осложнения, респираторный дистресс-синдром взрослых

Перед проведением сравнительного анализа количественных данных в исследуемых группах определяли вид распределения данных. Проверка на соответствие закону распределения была проведена с помощью критериев Колмогорова–Смирнова и Шапиро–Уилка с поправкой Лилиефорса. Поскольку при использовании критерия нормальности Шапиро–Уилка  $p < 0,05$  (принятая критическая величина), распределение всех переменных считали отличным от нормального. Количественные данные были сгруппированы в таблицы и представлены в виде медианы (Me) и квартильного размаха (LQ – нижняя квартиль, UQ – верхняя квартиль). Для сравнения количественных данных в двух исследуемых группах использовали тест Манна–Уитни с поправкой значений Бонферрони; критерий Манна–Уитни считали значимым при  $p < 0,05$ .

При анализе двух качественных дихотомических признаков и оценке статистической значимости использовали критерий хи-квадрат с поправкой Йейтса, при количестве исследований менее 5 – поправку Фишера ( $\chi^2$ ). Различия считали статистически значимыми при  $p < 0,05$ .

**Результаты и их обсуждение.** В первую очередь был проведен сравнительный анализ основных параметров КОС у женщин в исследуемых группах: длительность стимуляции гонадотропными лекарственными средствами и суммарная доза ФСГ (табл. 2).

Таблица 2. Параметры контролируемой овариальной стимуляции у пациентов исследуемых групп  
Table 2. Parameters of controlled ovarian stimulation in the patients of the studied groups

Показатель	Группа 1 (n = 60), Me [LQ; UQ]	Группа 2 (n = 43), Me [LQ; UQ]	Статистическая значимость различий	
			p	U
Суммарная доза ФСГ, МЕ	1537,50 [1125,00; 1800,00]	1500,00 [1050,00; 800,00]	0,72	1236,00
Длительность стимуляции, сут	9,00 [8,00; 10,00]	9,00 [8,00; 9,00]	0,09	1043,00

Как видно из табл. 2, статистически значимые межгрупповые различия по оцениваемым показателям отсутствовали. Так, медиана суммарной дозы ФСГ составила 1537,50 МЕ в 1-й исследуемой группе и 1500,00 МЕ – во 2-й; длительность КОС – в среднем 9 сут в 1-й и 2-й группах.

Затем были изучены эмбриологические параметры, позволяющие оценить эффективность проведенной КОС у женщин, включенных в исследование (табл. 3).

Согласно данным, представленным в табл. 3, в 1-й исследуемой группе медианы изучаемых показателей были следующими: число фолликулов в день трансвагинальной пункции составило 15; получено 14 пригодных к оплодотворению ооцитов, успешная фертилизация отмечена в 85,7 % случаев – развилось 12 эмбрионов, 6 (50 %) из которых прошли развитие до стадии бластоцисты. Во 2-й группе медианы таковы: количество фолликулов – 14; 13 пригодных для оплодотворения ооцитов использованы для фертилизации *in vitro*; получено 11 эмбрионов (уровень фертилизации – 84,6 %), 5 (45,5 %) из которых развились до стадии бластоцисты. Все показатели не имели статистически достоверных межгрупповых различий ( $p > 0,05$ ), на основании чего можно сделать заключение об отсутствии однозначного преимущества какой-либо из применяемых схем КОС с точки зрения эмбриологической эффективности.

Т а б л и ц а 3. Эмбриологические показатели эффективности контролируемой овариальной стимуляции у пациентов исследуемых групп

Table 3. Embryologic parameters of the controlled ovarian stimulation efficiency in the patients of the studied groups

Показатель	Группа 1 (n = 60), Me [LQ; UQ]	Группа 2 (n = 43), Me [LQ; UQ]	Статистическая значимость различий	
			p	U
Количество фолликулов в день трансвагинальной пункции	15,00 [14,00; 15,00]	14,00 [12,00; 15,00]	0,13	1069,00
Количество полученных ооцитов	14,00 [13,00; 15,00]	13,00 [12,00; 14,00]	0,06	1007,50
Количество эмбрионов	12,00 [10,00; 13,00]	11,00 [10,00; 12,00]	0,19	1095,50
Количество 8-клеточных эмбрионов	9,00 [8,00; 10,50]	9,00 [8,00; 10,00]	0,22	1107,00
Количество бластоцист	6,00 [5,00; 8,00]	5,00 [5,00; 7,00]	0,08	1024,50

Следующим этапом исследования являлось определение и сравнительный анализ концентрации в сыворотке крови таких гормонов, как эстрадиол и прогестерон. Определение содержания эстрадиола проводилось трижды: в день введения триггера ФДО, в день ПЭ в полость матки либо его отмены, а также на 5-е сутки после ПЭ либо его отмены. Измерение уровня прогестерона осуществлялось в день введения триггера ФДО и в день ПЭ (табл. 4).

Т а б л и ц а 4. Концентрация эстрадиола и прогестерона при проведении экстракорпорального оплодотворения

Table 4. Serum concentration of estradiol and progesterone during *in vitro* fertilization programs

Показатель	Группа 1 (n = 60), Me [LQ; UQ]	Группа 2 (n = 43), Me [LQ; UQ]	Статистическая значимость различий	
			p	U
E <sub>2</sub> в день введения триггера ФДО, пг/мл	2001,00 [1984,50; 2070,25]	2015,38 [1950,90; 2186,00]	0,39	1161,00
E <sub>2</sub> в день ПЭ или отмены, пг/мл	1485,03 [1303,50; 1638,70]	125,50 [1119,50; 1505,30]	0,001	851,50
E <sub>2</sub> на 5-й день после ПЭ или отмены, пг/мл	975,50 [920,10; 1157,10]	971,20 [912,40; 1020,00]	0,44	1174,00
P <sub>4</sub> в день введения триггера ФДО, нг/мл	2,56 [1,43; 3,18]	1,65 [1,23; 3,12]	0,001	757,00
P <sub>4</sub> в день ПЭ или отмены, нг/мл	50,96 [46,65; 56,18]	41,50 [24,56; 45,90]	0,001	423,00

Как видно из табл. 4, медиана концентрации эстрадиола в сыворотке крови у женщин 1-й группы в день введения триггера ФДО составила 2001,00 пг/мл, в день ПЭ либо его отмены – 1485,03, на 5-е сутки после ПЭ/отмены – 975,50 пг/мл. Во 2-й исследуемой группе медиана содержания E<sub>2</sub> была равна 2015,38 пг/мл в день введения триггера ФДО, 1256,50 и 971,20 пг/мл в день ПЭ и на 5-е сутки после ПЭ в полость матки либо его отмены соответственно. Выявлено статистически значимое превышение сывороточного содержания эстрадиола в день ПЭ у пациентов 1-й группы, т. е. при использовании схемы КОС с назначением аГнРГ: медиана содержания E<sub>2</sub> в 1-й группе составила 1485,03 пг/мл против 1256,50 пг/мл во 2-й группе ( $p = 0,001$ ;  $U = 851,50$ ), что свидетельствует о достоверно более выраженной гиперэстрогении у женщин с СГЯ, возникшей на фоне применения аГнРГ. Отмечено статистически значимое превышение медианы концентрации прогестерона в сыворотке крови женщин 1-й исследуемой группы на обоих этапах измерения в сравнении с аналогичным показателем во 2-й группе: в день введения триггера ФДО содержание P<sub>4</sub> составило 2,56 нг/мл против 1,65 нг/мл ( $p = 0,001$ ;  $U = 757,00$ ), в день ПЭ в полость матки либо его отмены концентрация прогестерона была равна 50,96 и 41,50 нг/мл у пациентов 1-й и 2-й групп соответственно ( $p = 0,001$ ;  $U = 423,00$ ). Согласно результатам исследований J. Ashmita с соавт. (2017), содержание прогестерона в сыворотке крови в день введения триггера ФДО оказывает значительное влияние на качество имплантации эмбриона и на частоту наступления беременности после экстракорпорального оплодотворения: выявлено, что частота наступления беременности значительно выше при P<sub>4</sub> < 1,5 нг/мл (33 % против 12,9 %,  $p = 0,037$ ). Также отмечено,

что преждевременное увеличение концентрации прогестерона в циклах ВРТ ассоциировано с более низкой вероятностью успешной имплантации и дальнейшего развития эмбриона [12].

С целью оценки влияния СГЯ на состояние системы гемостаза проведено измерение таких показателей, как АЧТВ, ПВ, МНО, концентрация фибриногена и Д-димеров в сыворотке крови, активность первичных физиологических антикоагулянтов (протеина С и АТ III). Исследования выполняли в три этапа: в день начала КОС; в день ПЭ или его отмены; на 5-е сутки после ПЭ в полость матки либо его отмены.

Согласно полученным результатам, в день начала КОС у пациентов исследуемых групп медианы оцениваемых показателей гемостаза находились в пределах нормативных значений и не имели статистически значимых межгрупповых различий (табл. 5).

Т а б л и ц а 5. Параметры гемостаза у пациентов исследуемых групп до начала контролируемой овариальной стимуляции

Table 5. Parameters of hemostasis in the patients of the studied groups before controlled ovarian stimulation

Показатель	Группа 1 (n = 60), Me [LQ; UQ]	Группа 2 (n = 43), Me [LQ; UQ]	Статистическая значимость различий	
			p	U
АЧТВ, с	28,00 [26,50;30,20]	28,10 [26,10;29,10]	0,21	1104,50
ПВ, с	13,90 [13,25;14,70]	13,90 [13,40;14,70]	0,91	1272,50
МНО	1,03 [0,96;1,13]	1,05 [0,99;1,09]	0,79	1251,00
Фибриноген, г/л	3,62 [3,27;3,93]	3,49 [3,12;3,86]	0,19	1098,00
Д-димеры, нг/мл	98,50 [84,80;109,00]	105,20 [79,00;138,00]	0,57	1206,00
Активность АТ III, %	105,00 [102,00;110,00]	105,00 [100,00;110,00]	0,81	1255,50
Активность протеина С, %	106,00 [102,00;110,00]	107,00 [100,00;114,00]	0,95	1281,00

Согласно данным, представленным в табл. 5, в 1-й исследуемой группе медиана АЧТВ составила 28,0 с; ПВ – 13,9 с; показатель МНО – 1,03; концентрация фибриногена – 3,62 г/л, Д-димеров – 98,5 нг/мл; активность АТ III и протеина С – 105,0 и 106,0 % соответственно. У пациентов 2-й группы показатели также соответствовали референсным нормативным значениям: медиана АЧТВ и ПВ – 28,1 и 13,9 с соответственно; МНО – 1,05; содержание фибриногена – 3,49 нг/мл, Д-димеров – 105,20 нг/мл; активность АТ III – 105,0 %, активность протеина С – 107,0 %. Полученные результаты свидетельствуют о том, что у обследуемых женщин не было нарушений функции свертывающей и противосвертывающей систем крови до начала проведения КОС, группы были сопоставимы по изучаемым показателям системы гемостаза.

Затем была проведена оценка параметров гемостаза в день ПЭ в полость матки либо его отмены (табл. 6).

Т а б л и ц а 6. Показатели системы гемостаза у пациентов исследуемых групп в день переноса эмбрионов либо его отмены

Table 6. Parameters of hemostasis in the patients of the studied groups on the day of embryo transfer or its cancellation

Показатель	Группа 1 (n = 60), Me [LQ; UQ]	Группа 2 (n = 43), Me [LQ; UQ]	Статистическая значимость различий	
			p	U
АЧТВ, с	27,85 [26,10; 28,55]	26,30 [24,90; 28,90]	0,06	1013,50
ПВ, с	13,60 [12,45; 14,15]	13,60 [12,10; 14,20]	0,89	1268,50
МНО	1,02 [0,99; 1,05]	1,02 [0,99; 1,06]	0,74	1241,50
Фибриноген, г/л	6,01 [4,89; 6,91]	5,28 [3,70; 6,38]	0,01	907,00
Д-димеры, нг/мл	495,00 [336,50; 837,50]	351,00 [245,00; 390,00]	0,03	974,00
Активность АТ III, %	75,00 [73,00; 79,50]	76,00 [74,00; 86,00]	0,01	907,50
Активность протеина С, %	76,00 [75,00; 83,50]	81,00 [78,00; 87,00]	0,02	934,00

Очевидно, что развитие СГЯ в процессе проведения программ экстракорпорального оплодотворения оказало значительное влияние на некоторые показатели системы гемостаза. Так, отмечено выраженное увеличение концентрации фибриногена и Д-димеров в сравнении с исходным уровнем: в 1-й исследуемой группе медиана содержания фибриногена возросла в 1,7 раза и составила 6,01 г/л; уровень Д-димеров возрос в 5 раз и достиг 495,0 нг/мл. Во 2-й группе медиана концентрации фибриногена составила 5,28 г/л, Д-димеров – 351,0 нг/мл (возрастание в 1,5 и 3,3 раза соответственно). Нами также выявлено снижение активности первичных физиологических антикоагулянтов, в среднем на 30 % от исходных значений. Значения АЧТВ, ПВ и МНО остались в пределах нормативных значений и существенно не изменились: медиана АЧТВ составила 27,85 и 26,3 с в 1-й и 2-й группах соответственно; медиана ПВ – 13,6 с, МНО – 1,02 в обеих группах.

Далее было изучено состояние системы гемостаза на 5-е сутки после ПЭ либо его отмены (табл. 7).

Т а б л и ц а 7. Показатели состояния системы гемостаза у пациентов исследуемых групп на 5-е сутки после переноса эмбрионов либо его отмены

Table 7. Parameters of hemostasis in the patients of the studied groups on the 5th day after embryo transfer or its cancellation

Показатель	Группа 1 (n = 60), Me [LQ; UQ]	Группа 2 (n = 43), Me [LQ; UQ]	Статистическая значимость различий	
			p	U
АЧТВ, с	27,55 [25,80; 28,55]	26,90 [26,00; 29,00]	0,77	1246,00
ПВ, с	13,20 [12,35; 13,90]	13,6 [13,10; 14,30]	0,06	1010,00
МНО	1,02 [1,01; 1,05]	1,04 [0,99; 1,09]	0,25	1119,50
Фибриноген, г/л	5,29 [4,25; 6,40]	4,25 [3,46; 5,45]	0,001	845,00
Д-димеры, нг/мл	554,00 [347,00; 876,00]	306,00 [159,00; 495,00]	0,001	715,50
Активность АТ III, %	74,00 [70,50; 78,00]	76,00 [71,00; 86,00]	0,001	962,50
Активность протеина С, %	78,00 [76,00; 80,50]	86,00 [78,00; 96,00]	0,001	765,00

На основании представленных в табл. 7 данных можно заключить, что у пациентов с СГЯ сохраняется тенденция к гиперкоагуляции к 5-м суткам после ПЭ в полость матки либо его отмены за счет превышения концентрации фибриногена (5,29 и 4,25 г/л для 1-й и 2-й групп соответственно) в сравнении с нормативными значениями. Следует обратить внимание на наличие статистически достоверных межгрупповых различий ( $p < 0,05$ ) по таким оцениваемым показателям, как концентрация фибриногена, уровень Д-димеров (554,0 и 306,0 нг/мл в 1-й и 2-й группах соответственно). Также выявлено более значительное снижение активности первичных физиологических антикоагулянтов у пациентов 1-й группы в сравнении с показателями у женщин 2-й группы: активность АТ III составила 74,0 % против 76,0 % ( $p = 0,001$ ;  $U = 962,50$ ), протеина С – 78,0 % против 86,0 % ( $p = 0,001$ ;  $U = 765,00$ ).

Статистический анализ полученных показал, что развитие СГЯ в результате применения ВРТ приводит к значительным изменениям функционирования свертывающей и противосвертывающей систем крови; наиболее выражен гиперкоагуляторный сдвиг при применении схемы КОС с использованием аГнРГ.

С целью оценки эффективности и безопасности применения различных схем КОС проведен сравнительный анализ исходов ЭКО женщин в исследуемых группах (табл. 8).

Данные, представленные в табл. 8, свидетельствуют о наличии статистически значимых межгрупповых различий по таким результатам ЭКО, как частота отмены ПЭ, развитие ранней формы СГЯ и частота наступления беременности в расчете на ПЭ в полость матки. Так, при использовании протокола КОС с применением аГнРГ необходимость отмены ПЭ в связи с манифестацией СГЯ отмечалась в 20 (5,57 %) случаях, а во 2-й группе – всего у 8 (2,22 %) пациентов; также значительно чаще развивалась ранняя форма СГЯ – у 39 (10,86 %) женщин; для протокола КОС с антГнРГ была более характерна поздняя форма осложнения, возникшая у 22 (6,13 %) пациентов. Отмечены высокие показатели эффективности программ ЭКО. Так, частота наступления беременности в расчете на ПЭ составила 87,5 % в 1-й группе и 80,0 % – во 2-й. Частота наступления беременности в расчете на проведенные циклы ЭКО также была достаточно высокой, составив 58,3 и 65,1 % в 1-й и 2-й группах соответственно.

Т а б л и ц а 8. Исходы экстракорпорального оплодотворения у пациентов исследуемых групп

Table 8. *In vitro* fertilization results in the patients of the studied groups

Показатель	Группа 1 (60 женщин с СГЯ, общее число пациентов в протоколе с аГнРГ – 359)		Группа 2 (43 женщины с СГЯ, общее число пациентов в протоколе с антГнРГ – 359)		Статистическая значимость различий	
	Всего	%	Всего	%	$\chi^2_{1,2}$	$p_{1,2}$
<i>Из расчета общего количества пациентов в протоколе</i>						
Всего СГЯ	60	16,71	43	11,98	2,90	0,08
Отмена ПЭ	20	5,57	8	2,22	4,50	0,03
СГЯ, ранняя форма	39	10,86	21	5,84	5,26	0,02
СГЯ, поздняя форма	21	5,84	22	6,13	0,00	0,99
<i>Из расчета количества пациентов в исследуемой группе</i>						
Частота наступления беременности после ПЭ	35	87,50	28	80,00	4,5	0,03
Частота наступления беременности после ЭКО	35	58,30	28	65,12	0,24	0,62
Из них:						
одноплодные	30	85,71	23	82,14	0,00	0,97
двойни	4	11,42	5	17,86	0,13	0,71
тройни	1	2,87	0	–	0,01	0,91
Эктопические беременности	0	–	0	–	–	–
Самопроизвольное прерывание беременности до 12 недель	9	25,71	5	17,86	0,19	0,66
Из них:						
одноплодные	9	100,00	3	60,00	1,4	0,24
двойни	0	–	2	40,00	0,69	0,41
тройни	0	–	0	–	–	–
Прерывание беременности в сроке 12–22 недели гестации	0	–	0	–	–	–
Срочные роды	21	60,00	20	71,43	0,46	0,50
Из них:						
одноплодные	21	60,00	20	71,43	0,46	0,50
двойни	0	–	0	–	–	–
тройни	0	–	0	–	–	–
Преждевременные роды	5	14,28	3	10,71	0,00	0,97
Из них:						
одноплодные	0	–	0	–	–	–
двойни	4	80,00	3	100,00	0,08	0,78
тройни	1	20,00	0	–	0,14	0,71

Отдельно следует отметить преобладание одноплодных беременностей. В 1-й исследуемой группе из 35 наступивших беременностей 30 (85,71 %) одноплодных, 4 (11,42 %) двойни и 1 (2,87 %) тройня. Во 2-й группе из 28 беременностей 23 (82,14 %) одноплодные, 5 (17,86 %) – двойни. У женщин, включенных в исследование, не отмечено ни одного случая эктопической беременности.

Репродуктивные потери в первом триместре гестационного процесса (до 12 недель) составили 9 (25,71 %) в 1-й группе пациентов, причем все самопроизвольные аборты произошли у женщин с одноплодными беременностями. Во 2-й группе самопроизвольные аборты в сроке до 12 недель отмечены у 5 (17,86 %) женщин: 3 из них – одноплодные беременности, 2 – беременности двойней. Поздних самопроизвольных прерываний беременности в сроке с 12 до 22 недель беременности у пациентов, включенных в исследование, не было.

Наступившие беременности завершились срочными родами у 21 (60 %) и 20 (71,43 %) женщин 1-й и 2-й исследуемых групп соответственно. Следует отметить, что все беременности, завершившиеся родами в срок, были одноплодными. Многоплодные беременности привели к преждевременным родам в обеих группах.

Таким образом, проанализировав полученные результаты, можно сделать следующий вывод: при развитии СГЯ у женщин, которым проводили КОС с использованием аГнРГ, отмечалась статистически значимо более высокая частота отмены ПЭ и развития ранней формы СГЯ, чем у пациентов, которым назначали КОС с антГнРГ. Также следует отметить, что в 1-й исследуемой группе частота прерывания беременности в первом триместре составила 25,71 % в сравнении с 17,86 % во 2-й группе; срочные роды произошли у 60 % женщин, в то время как во 2-й группе – у 71,43 % пациентов. Тем не менее, статистической достоверности различий по частоте прерывания беременности не выявлено, однако проведение более обширных исследований может обеспечить большую статистическую значимость.

Завершение многоплодных беременностей преждевременными родами подтверждает целесообразность выбора тактики переноса одного наиболее качественного эмбриона с проведением криоконсервации всех остальных эмбрионов, так как это позволит снизить частоту наступления многоплодных беременностей и, таким образом, даст возможность избежать многих акушерских осложнений, в частности преждевременных родов.

**Заключение.** В результате проведенного исследования установлено, что применение протокола КОС с использованием антГнРГ обладает статистически достоверно большей безопасностью и сравнимой эффективностью в сравнении с протоколом стимуляции с аГнРГ. При использовании схемы стимуляции с антГнРГ статистически значимо ниже частота возникновения ранней формы СГЯ (5,84 % против 10,86 %), ниже частота отмены ПЭ из-за развития СГЯ средней степени тяжести (4,5 % против 5,57 %). Также отмечены менее выраженные гормональные изменения, способные усугубить тяжесть течения СГЯ и снизить эффективность ЭКО: концентрация эстрадиола в сыворотке крови в день ПЭ составила 1485,03 пг/мл против 1256,50 пг/мл во 2-й группе; содержание прогестерона в день введения триггера ФДО составило 2,56 нг/мл против 1,65 нг/мл, концентрация прогестерона в день ПЭ в полость матки либо его отмены была равна 50,96 и 41,50 нг/мл у пациентов 1-й и 2-й групп соответственно.

Отдельно следует отметить, что применение КОС с антагонистами характеризуется менее выраженным гиперкоагуляторным сдвигом в функции свертывающей и противосвертывающей систем крови: значительно ниже концентрация фибриногена и Д-димеров; выше показатели активности первичных физиологических антикоагулянтов (АТ III и протеина С).

Эмбриологические параметры эффективности КОС показали сравнимое качество созревания яйцеклеток, процент фертилизации и образования бластоцист в обоих протоколах. Не отмечено статистически достоверных различий по частоте наступления беременности в расчете на циклы экстракорпорального оплодотворения.

Также следует принять во внимание, что наступление многоплодных беременностей было связано с самопроизвольными абортами в первом триместре и с высокой частотой преждевременных родов в обеих группах, что подтверждает целесообразность переноса в полость матки одного качественного эмбриона.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

#### Список использованных источников

1. Об утверждении Национальной программы демографической безопасности Республики Беларусь на 2011–2015 годы : Указ Президента Респ. Беларусь, 11 авг. 2011 г., № 357 : в ред. Указа Президента Респ. Беларусь от 12.09.2012 г. // Эталон-Беларусь [Электронный ресурс] / Нац. центр правовой информации Респ. Беларусь. – Минск, 2013.
2. De Geyter, Ch. The European IVF-monitoring Consortium (EIM) for the European Society of Human Reproduction and Embryology (ESHRE), ART in Europe, 2014: results generated from European registries by ESHRE: The European IVF-monitoring Consortium (EIM) for the European Society of Human Reproduction and Embryology (ESHRE) / Ch. De Geyter [et al.] // Human Reproduction. – 2018. – Vol. 33, N 9. – P. 1586–1601. <https://doi.org/10.1093/humrep/dey242>
3. Calhaz-Jorge, C. Assisted reproductive technology in Europe, 2013: results generated from European registers by ESHRE / C. Calhaz-Jorge [et al.] // Human Reproduction. – 2017. – Vol. 31, N 8. – P. 1638–1652. <https://doi.org/10.1093/humrep/dew151>
4. El Tokhy, O. An update on the prevention of ovarian hyperstimulation syndrome / O. El Tokhy, J. Kopeika, T. El-Toukhy // Womens Health. – 2016. – Vol. 12, N 5. – P. 496–503. <https://doi.org/10.1177/1745505716664743>
5. Prevention and treatment of moderate and severe ovarian hyperstimulation syndrome: a guideline / S. Pfeifer [et al.] // Fertility and Sterility. – 2016. – Vol. 106, N 7. – P. 1634–1647. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2016.08.048>
6. Smith, V. Prevention of ovarian hyperstimulation syndrome: a review / V. Smith, T. Osianlis, B. Vollenhoven // Obstet. Gynecol. Int. – 2015. – Vol. 2015 – Art. ID 514159. <https://doi.org/10.1155/2015/514159>

7. Fatemi, H. M. Ovarian stimulation: today and tomorrow / H. M. Fatemi, C. Blockeel, P. Devroey // *Curr. Pharm. Biotechnol.* – 2012. – Vol. 13, N 3. – P. 392–397. <https://doi.org/10.2174/138920112799362007>
8. Shrestha, D. Comparison of different stimulation protocols used in *in vitro* fertilization: a review / D. Shrestha, X. La, H. L. Feng // *Ann. Transl. Med.* – 2015. – Vol. 3, N 10. – Art. 137. <https://doi.org/10.3978/j.issn.2305-5839.2015.04.09>
9. Humaidan, P. GnRHa trigger for final oocyte maturation: is HCG trigger history? / P. Humaidan, B. Alsbjerg // *Reprod. Biomed. Online.* – 2014. – Vol. 29, N 3. – P. 274–280. <https://doi.org/10.1016/j.rbmo.2014.05.008>
10. Gonadotrophin-releasing hormone antagonists versus GnRH agonist in subfertile couples undergoing assisted reproductive technology [Электронный ресурс]. – Режим доступа : /CD001750/MENSTR\_gonadotrophin-releasing-hormone-antagonists-versus-gnrh-agonist-subfertile-couples-undergoing. – Дата доступа : 07.10.2019.
11. О некоторых вопросах применения вспомогательных репродуктивных технологий [Электронный ресурс] : постановление М-ва здравоохранения Респ. Беларусь, 1 июня 2012 г., № 54 // Национальный правовой Интернет-портал Республики Беларусь. – Режим доступа : <http://minzdrav.gov.by/upload/dadvfiles/O%20некоторых%20вопросах%20репродук.%20технолог.pdf>. – Дата доступа : 25.08.2019.
12. Ashmita, J. The impact of progesterone level on day of hCG injection in IVF cycles on clinical pregnancy rate / J. Ashmita, S. Vikas, G. Swati // *J. Hum. Reprod. Sci.* – 2017. – Vol. 10, N 4. – P. 265–270. <https://doi.org/10.4103/0974-1208.223278>

## References

1. Decree of the President of the Republic of Belarus “About validation of the National program of demographic safety in the Republic of Belarus in 2011–2015] of August 11, 2011, no. 357 (as amended by the Decree of the President of the Republic of Belarus on September 09, 2012) (in Russian).
2. De Geyter Ch., Calhaz-Jorge C., Kupka M. S., Wyns C., Mocanu E., Motrenko T., Scaravelli G., Smeenk J., Vidakovic S., Goossens V. The European IVF-monitoring Consortium (EIM) for the European Society of Human Reproduction and Embryology (ESHRE), ART in Europe, 2014: results generated from European registries by ESHRE: The European IVF-monitoring Consortium (EIM) for the European Society of Human Reproduction and Embryology (ESHRE). *Human Reproduction*, 2018, vol. 33, no. 9. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30032255> (accessed 15 August 2019). <https://doi.org/10.1093/humrep/dey242>
3. Calhaz-Jorge C., De Geyter Ch., Kupka M. S., de Mouzon J., Erb K., Mocanu E., Motrenko T., Scaravelli G., Wyns C., Goossens V. Assisted reproductive technology in Europe, 2013: results generated from European registers by ESHRE. *Human Reproduction*, 2017, vol. 31, no. 8, pp. 1638–1652. <https://doi.org/10.1093/humrep/dew151>
4. El Tokhy O., Kopeika J., El-Toukhy T. An update on the prevention of ovarian hyperstimulation syndrome. *Womens Health*, 2016, vol. 12, no. 5, pp. 496–503. <https://doi.org/10.1177/1745505716664743>
5. Pfeifer S., Butts S., Dumesic D., Fossum G., Gracia C., La Barbera A. [et al.]. Prevention and treatment of moderate and severe ovarian hyperstimulation syndrome: a guideline. *Fertility and Sterility*, 2016, vol. 106, no. 7, pp. 1634–1647. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2016.08.048>
6. Smith V., Osianlis T., Vollenhoven B. Prevention of ovarian hyperstimulation syndrome: a review. *Obstetrics and Gynecology International*, 2015, vol. 2015, art. ID 514159. <https://doi.org/10.1155/2015/514159>
7. Fatemi H. M., Blockeel C., Devroey P. Ovarian stimulation: today and tomorrow. *Current Pharmaceutical Biotechnology*, 2012, vol. 13, no. 3, pp. 392–397. <https://doi.org/10.2174/138920112799362007>
8. Shrestha D., La X., Feng H. L. Comparison of different stimulation protocols used in *in vitro* fertilization: a review. *Annals of Translational Medicine*, 2015, vol. 3, no. 10, art. 137. <https://doi.org/10.3978/j.issn.2305-5839.2015.04.09>
9. Humaidan P., Alsbjerg B. GnRHa trigger for final oocyte maturation: is HCG trigger history? *Reproductive BioMedicine Online*, 2014, vol. 29, no. 3, pp. 274–280. <https://doi.org/10.1016/j.rbmo.2014.05.008>
10. Gonadotrophin-releasing hormone antagonists versus GnRH agonist in subfertile couples undergoing assisted reproductive technology. Available at: /CD001750/MENSTR\_gonadotrophin-releasing-hormone-antagonists-versus-gnrh-agonist-subfertile-couples-undergoing (accessed 07.10.2019).
11. Resolution of the Ministry of Health of the Republic of Belarus “About some aspects of use of assisted reproductive technologies” of June 01, 2012, no. 54. *National Legal Internet Portal of the Republic of Belarus*. Available at: <http://minzdrav.gov.by/upload/dadvfiles/O%20некоторых%20вопросах%20репродук.%20технолог.pdf> (accessed 20.08.2019) (in Russian).
12. Ashmita J., Vikas S., Swati G. The impact of progesterone level on day of hCG injection in IVF cycles on clinical pregnancy rate. *Journal of Human Reproduction Science*, 2017, vol. 10, no. 4, pp. 265–270. <https://doi.org/10.4103/0974-1208.223278>

## Информация об авторах

Жуковская Светлана Викторовна – ассистент. Белорусский государственный медицинский университет (пр. Дзержинского, 83, 220116, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: [dr.zhukovskaya@gmail.com](mailto:dr.zhukovskaya@gmail.com)

Можейко Людмила Федоровна – д-р мед. наук, профессор, заведующий кафедрой. Белорусский государственный медицинский университет (пр. Дзержинского, 83, 220116, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: [lfmozheiko@gmail.com](mailto:lfmozheiko@gmail.com)

## Information about the authors

Svetlana V. Zhukovskaya – Assistant. Belarusian State Medical University (83, Dzerzhinski Ave., 220116, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: [dr.zhukovskaya@gmail.com](mailto:dr.zhukovskaya@gmail.com)

Liudmila F. Mozhejko – D. Sc. (Med.), Professor, Head of the Department. Belarusian State Medical University (83, Dzerzhinski Ave., 220116, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: [lfmozheiko@gmail.com](mailto:lfmozheiko@gmail.com)

А. В. Давыдов<sup>1</sup>, Л. П. Титов<sup>2</sup>, А. Н. Хархаль<sup>2</sup>, В. Г. Барауля<sup>3</sup>, Ю. В. Гусакова<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Белорусский государственный медицинский университет, Минск, Республика Беларусь

<sup>2</sup>Республиканский научно-практический центр эпидемиологии и микробиологии,  
Минск, Республика Беларусь

<sup>3</sup>Минский городской центр гигиены и эпидемиологии, Минск, Республика Беларусь

### СВЯЗЬ МЕХАНИЗМОВ ГЕНОТИПИЧЕСКОЙ РЕЗИСТЕНТНОСТИ *STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE* К АНТИБИОТИКАМ С ФЕНОТИПИЧЕСКОЙ РЕЗИСТЕНТНОСТЬЮ И СЕРОТИПАМИ

**Аннотация.** Изучение резистомы пневмококка и получение данных о молекулярно-генетических механизмах резистентности и их распространении имеют важное значение при проведении сравнительных исследований и осуществлении эпидемиологического надзора за резистентностью.

Цель исследования – изучение генотипической резистентности к антибиотикам штаммов пневмококка, выделенных от пациентов с различными формами пневмококковой инфекции и бактерионосителей, а также ее взаимосвязи с фенотипической резистентностью к антибиотикам и клинико-эпидемиологическими характеристиками штаммов (серотип, форма вызываемой инфекции).

Материалом исследования являлись 546 штаммов пневмококка и 5 образцов биологического материала, выделенных/полученных от пациентов разного возраста (5 дней – 81 год) с различными формами пневмококковой инфекции (менингит и другие инвазивные формы – 28 пациентов; пневмония – 27; острый синусит – 18; острый средний отит – 118; конъюнктивит – 26) и бактерионосителей (331 пациент).

Генотипическая резистентность пневмококка к антибиотикам исследовалась посредством мультиплексной ПЦР с детекцией генов *mefA*, *ermB* и мутаций в генах пенициллин-связывающих белков: *pbp1a* (574T→N, 575S→T, 576Q→G и 577F→Y); *pbp2b* (431T→K, 432Q→L) и *pbp2x* (338T→A).

В ходе исследования 551 изолята *S. pneumoniae* установлено, что у 60 % из них имеется как минимум один механизм резистентности к макролидам/линкозамидам, а распространенность гетерорезистентности (*mefA* + *ermB*) составила 22 %. Среди исследованных штаммов как минимум одну модификацию *pbp* имели 65 %, две модификации – 26, все три исследованные модификации *pbp* – 24 %. Доминирующим механизмом резистентности к макролидам является метилирование 23S РНК (ген *ermB*), который был обнаружен у 43 % генетически резистентных изолятов. Среди генетически резистентных к пенициллину изолятов пневмококка чаще всего встречались комбинации модификаций генов *pbp 1a* + 2*x* + 2*b* или *pbp 1a* + 2*x* (по 39–40 %) и отсутствовал генотип резистентности, обусловленный модификацией только *pbp2b*.

**Ключевые слова:** пневмококк, пневмококковая инфекция, *Streptococcus pneumoniae*, молекулярно-генетические механизмы резистентности к антибиотикам, *mefA*, *ermB*, *pbp*

**Для цитирования:** Связь механизмов генотипической резистентности *Streptococcus pneumoniae* к антибиотикам с фенотипической резистентностью и серотипами / А. В. Давыдов [и др.] // Вест. Нац. акад. наук Беларуси. Сер. мед. наук. – 2019. – Т. 16, № 4. – С. 454–467. <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2019-16-4-454-467>

A. V. Davydov<sup>1</sup>, L. P. Titov<sup>2</sup>, A. N. Kharkhal<sup>2</sup>, V. G. Baraulya<sup>3</sup>, Y. V. Guskova<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Belarusian State Medical University, Minsk, Republic of Belarus

<sup>2</sup>Republic Research Center for Epidemiology and Microbiology, Minsk, Republic of Belarus

<sup>3</sup>Minsk City Center for Hygiene and Epidemiology, Minsk, Republic of Belarus

### ASSOCIATION BETWEEN MOLECULAR MECHANISMS OF ANTIMICROBIAL RESISTANCE, PHENOTYPES AND SEROTYPES IN *STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE*

**Abstract.** Studies on pneumococcal resistome and molecular antimicrobial resistance mechanisms are relevant and may be used in large-scale epidemiological researches and surveillance of antimicrobial resistance.

A study of antimicrobial molecular resistance in the pneumococcal strains, that were isolated from the patients having the different forms of the pneumococcal infection or carriage, and association of it with phenotypes, clinical and epidemiological features of the strains (serotype, form of the infection).

We studied 546 pneumococcal strains and 5 specimens, that were isolated/obtained from the patients of various age (5 days – 81 years) having the different forms of the pneumococcal infection (meningitis and other invasive forms – 28, pneumonia – 27, acute rhinosinusitis – 18, acute otitis media – 118, conjunctivitis – 26) or carriage (331).

We used multiplex PCR to detect the following molecular pneumococcal antimicrobial resistance determinants – genes *mefA*, *ermB* and mutations in the penicillin-binding proteins: *pbp1a* (574T→N, 575S→T, 576Q→G and 577F→Y); *pbp2b* (431T→K, 432Q→L) and *pbp2x* (338T→A).

Among studied strains 60 % of 551 possess at least one resistance mechanism to macrolides/lincosamides, while 22 % were heteroresistant (*mefA* + *ermB*). About 65 % of the strains carry at least one *pbp* modification, 26 % – two modifications and 24 % – three *pbp* modifications. 23S RNA methylase (*ermB* gene) were discovered as a dominating mechanism and was detected in 43 % of genetically resistant strains. *Pbp 1a* + *2x* + *2b* and *pbp 1a* + *2x* were more frequent modifications among penicillin genetically resistant pneumococci, while *pbp2b* genotype was not detected.

**Keywords:** pneumococcus, pneumococcal infection, *Streptococcus pneumoniae*, molecular resistance mechanisms to antimicrobials, *mefA*, *ermB*, *pbp*

**For citation:** Davydov A. V., Titov L. P., Kharkhal A. N., Baraulya V. G., Gusakova Y. V. Association between molecular mechanisms of antimicrobial resistance, phenotypes and serotypes in *Streptococcus pneumoniae*. *Vesti Natsyonal'nai akademii nauk Belarusi. Seriya meditsinskikh nauk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2019, vol. 16, no. 4, pp. 454–467 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2019-16-4-454-467>

**Введение.** Роль *Streptococcus pneumoniae* в патологии человека весьма высока, поскольку пневмококк является этиологическим агентом таких заболеваний, как внебольничная пневмония, бронхит, фарингит, синусит, острый средний отит, конъюнктивит, сепсис, менингит, эндокардит, артрит. Частота заболеваний, обусловленных *S. pneumoniae*, постоянно растет, они протекают тяжело и характеризуются высокой летальностью. Так, у пациентов с иммунодефицитами показатель летальности от пневмококковой инфекции достигает 50 %, а группами риска по развитию инвазивных форм пневмококковой инфекции и летальных исходов являются дети с иммунодефицитными состояниями, особенно недоношенные или ВИЧ-инфицированные, а также лица старше 65 лет [1].

Макролиды в терапевтических концентрациях являются бактериостатическими антибиотиками, которые ингибируют синтез белка посредством связывания компонента 50S субъединицы рибосомы – 23S рРНК, что приводит к преждевременной диссоциации комплекса пептидил-ТРНК с рибосомы. Основными механизмами резистентности пневмококка к ним является модификация мишени действия и активный эффлюкс препарата из клетки [2]. Наиболее часто модификация мишени обусловлена геном *ermB*, который кодирует РНК-метилазу, способную выполнять метилирование аденина в позиции 2058 23S рРНК, что приводит к появлению штаммов, высокоустойчивых к 14-, 15- и 16-членным макролидам, линкозамидам и стрептограминам В. Вторым механизмом является выведение антибиотика за пределы клетки посредством эффлюкс-помпы, которую кодирует класс генов *mef*, включающий варианты *mefA*, *mefE* и *mefI* [2]. В последние годы в странах Европы, Америки, Азии, Африки наблюдается увеличение количества публикаций, описывающих штаммы, обладающие комбинацией механизмов резистентности к макролидам (*ermB* и *mefA*) [2–4].

Формирование устойчивости к бета-лактамам антибиотикам *S. pneumoniae* происходит путем приобретения мутаций генами, кодирующими пенициллин-связывающие белки (ПСБ, *pbp*), которые являются важными компонентами клеточной стенки бактерий и основной мишенью действия бета-лактамов антибиотиков. Последовательное приобретение множественных мутаций в генах, кодирующих различные ПСБ, приводит к повышению значений минимальных подавляющих концентраций (МПК) пенициллина и других бета-лактамов антибиотиков [5]. Поскольку изменения в строении ПСБ, проявляющиеся в виде мозаичной структуры, снижают сродство β-лактамов к бактериальной клетке, установление изменений в генах, детерминирующих ПСБ, является основой изучения генотипической резистентности пневмококка к β-лактамам [2, 6]. Основное различие в формировании резистентности к β-лактамам и макролидам заключается в том, что гены, кодирующие ПСБ, стабильно расположены в хромосоме *S. pneumoniae*, в то время как детерминанты резистентности к макролидам и линкозамидам легко переносятся транспозонами [7].

В соответствии с современными подходами к эмпирической терапии пациентов с пневмококковой инфекцией при выборе антибиотика и его дозы должны учитываться локальные сведения об антибиотикорезистентности *S. pneumoniae*. Назначение правильной стартовой антимикробной терапии при различных формах пневмококковой инфекции, особенно инвазивных, снижает вероятность неблагоприятного исхода, в том числе смерти и инвалидизации [8].

Важность изучения резистоста определяется тем, что он является основой фенотипической резистентности. Данные о ее молекулярных механизмах и их распространении имеют важное эпидемиологическое значение и используются при проведении сравнительных исследований и надзора за распространением резистентности. Существует ряд публикаций, описывающих методы ПЦР для детекции генетических детерминант резистентности пневмококка к макролидам и β-лактамам, однако они недостаточно валидированы на больших коллекциях штаммов в плане прогнозирования фенотипической резистентности [9–11].

Цель исследования – изучение генотипической резистентности к антибиотикам штаммов пневмококка, выделенных от пациентов с различными формами пневмококковой инфекции и бактерионосителей, а также ее взаимосвязи с фенотипической резистентностью к антибиотикам и клинико-эпидемиологическими характеристиками штаммов (серотип, форма вызываемой инфекции).

**Объекты и методы исследования.** Объектами исследования являлись 546 штаммов пневмококка и 5 образцов биологического материала, выделенных/полученных в период с февраля 2013 г. по декабрь 2016 г. от пациентов и переданных микробиологическими лабораториями лечебно-профилактических учреждений страны в Республиканскую референс-лабораторию по диагностике инвазивных бактериальных заболеваний (Лаборатория клинической и экспериментальной микробиологии РНПЦ эпидемиологии и микробиологии). Исследованные штаммы были получены от 551 пациента (59 % мужчин и 41 % женщин) с различными формами внебольничной пневмококковой инфекции (220/551; 39,9 %) и носительством (331/551; 60,1 %) (табл. 1). Возраст пациентов составлял 5 дней – 81 год (средний – 7,9 года, медиана – 3 года, межквартильный размах – 2–6 лет).

Штаммы были выделены в следующих регионах Беларуси: г. Минск (382; 69,3 %), Гомельская обл. (105; 19,1 %), Могилевская обл. (51; 9,3 %), Витебская обл. (13; 2,4 %).

Исследуемые штаммы были выделены из отделяемого носоглотки (50,3 %), жидкости среднего уха (21,4 %), отделяемого зева (9,8 %), отделяемого глаз (4,7 %), цереброспинальной жидкости (4,2 %), крови (3,3 %), отделяемого околоносовых пазух (3,3 %), мокроты (1,3 %), плевральной жидкости (0,9 %), кожи (0,5 %) и тканей легкого (0,4 %). Жидкость среднего уха получали при выполнении парацентеза или после перфорации барабанной перепонки, а содержимое околоносовых пазух (преимущественно верхнечелюстных) – при выполнении пункции; мокроту – при бронхоскопии или эндотрахеальной аспирации.

Т а б л и ц а 1. Характеристика исследованных штаммов в зависимости от диагноза пациентов

Table 1. Characteristic of the studied strains depending on the diagnosis of patients

Диагноз	К-во штаммов	Соотношение мужчин и женщин, %	Возраст (средний, минимальный–максимальный)	Возраст (медиана [25%–75%])	Источник выделения
Менингит и другие инвазивные формы	28	67/33	37,8 года (14 мес. – 78 лет)	41,5 [6,5–58] года	ЦСЖ – 82,1 %, кровь – 17,9 %
Пневмония	27	52/48	27,9 года (11 мес. – 70 лет)	25 [6–48,5] лет	Кровь – 48,1 %, мокрота – 25,9 %, ПЖ – 18,5 %, ткани легкого – 7,4 %
Острый синусит	18	50/50	11,6 года (3 года – 17 лет)	12,5 [8,75–14,5] года	Отделяемое пазух – 100 %
Острый средний отит	118	59/41	3,1 года (2 мес. – 48 лет; у 96 % пациентов: 2 мес. – 8 лет)	2,1 [9,5–36 мес.] года	ЖСУ – 100 %
Конъюнктивит	26	54/46	2,7 года (2 мес. – 13 лет)	2 [1–3] года	Отделяемое глаза – 100 %
Носительство с инфекцией верхних дыхательных путей	233	59/41	5,6 года (1 мес. – 81 год)	3,5 [2–6] года	Отделяемое носоглотки – 85,4 %, отделяемое зева – 14,6 %
Носительство здоровое	98	63/37	4,7 года (5 дней – 60 лет)	3,3 [2,4–5] года	Отделяемое носоглотки – 79,6 %, отделяемое зева – 20,4 %

П р и м е ч а н и е. ЦСЖ – цереброспинальная жидкость, ПЖ – плевральная жидкость, ЖСУ – жидкость среднего уха.

Для изучения фенотипической резистентности к антибиотикам и последующего сравнения ее с генотипической из общего числа было отобрано 214 штаммов. Из них 181 (84,6 %) штамм являлся клинически значимым (выделен от пациентов с различными формами пневмококковой инфекции) и 33 (15,4 %) штамма были выделены от бактерионосителей.

Реидентификацию изолятов проводили в соответствии с лабораторным руководством ВОЗ и CDC (Центры по контролю и профилактике заболеваний, США) [12] на основании микроскопии с окрашиванием по Граму, оценки морфологии колоний и гемолитической активности, отрицательной пробы на каталазу, чувствительности к оптохину, растворимости солями желчных кислот, а также молекулярно-генетического обнаружения гена аутолизина (*lytA*), гена регуляции синтеза капсулы (*cpsA*) и специфичных отдельным серотипам фрагментов генов капсульного локуса с целью серогенотипирования по описанной ранее методике [13, 14].

Генотипическую резистентность пневмококка к антибиотикам исследовали посредством мультиплексной ПЦР (две реакционные смеси). Исследуемыми генами резистентности к макролидам и линкозамидам (реакция 1) являлись *mefA* (кодирует трансмембранный переносчик – эффлюкс-помпу, активно выводящую антибиотик за пределы клетки) и *ermB* (РНК-метиلاза, способная выполнять метилирование аденина в позиции 2058 23S рРНК – мишени действия макролидов и линкозамидов). Исследуемыми детерминантами резистентности к β-лактамам (реакция 2) являлись следующие модификации в структуре ПСБ: *pbp1a* (четыре последовательные замены 574Т→N, 575S→T, 576Q→G и 577F→Y); *pbp2b* (замены 431Т→K, 432Q→L вблизи консервативного мотива 448SSN) и *pbp2x* (мутация 338Т→А в 337STMK мотиве), для детекции которых использовали праймеры с соответствующими нуклеотидными заменами неизмененных генов [15, 16]. В каждой реакции в качестве положительного контроля осуществлялось обнаружение гена регуляции синтеза капсулы пневмококка *cpsA*. Для экстракции ДНК из культур микроорганизмов применяли метод кипячения, из образцов биологического материала – сорбционный метод с использованием центрифужных силика-колонок NucleoSpin Tissue (Macherey-Nagel, Германия) с предшествующим ферментативным лизисом мутанолизинном и лизоцимом.

Т а б л и ц а 2. Праймеры, используемые для детекции детерминант резистентности пневмококка к антибиотикам

Table 2. Primers used to detect the determinants of pneumococcal resistance to antibiotics

Праймер	Последовательность праймера (5'-3')	Концентрация в реакционной смеси, μM	Размер продукта реакции, п. н.
<i>mefA</i> -F	AGTATCATTAATCACTAGTGC	0,3	346
<i>mefA</i> -R	TTCTTCTGGTACTAAAAGTGG	0,3	
<i>ermB</i> -F	GAAAAGGTACTCAACCAATA	0,5	639
<i>ermB</i> -R	AGTAACGGTACTTAAATTGTTTAC	0,5	
<i>pbp1a</i> -F	AGTATATCAAGAACACTGGCTACG	0,5	353
<i>pbp1a</i> -R	GCTTGGAGTGGTTGAGCTA	0,5	
<i>pbp2b</i> -F	AAATTGGCATATGGATCTTTC	0,5	442
<i>pbp2b</i> -R	TATTCATCTCTGTCGGTTGC	0,5	
<i>pbp2x</i> -F	AAGTAACTATGAACCAGGATCAG	0,5	399
<i>pbp2x</i> -R	CGAAGCATTTGTGTTTGTGT	0,5	
<i>cpsA</i> -F	GCAGTACAGCAGTTTGTGGACTGACC	0,1	160
<i>cpsA</i> -R	GAATATTTTCATTATCAGTCCCAGTC	0,1	

Аmplификацию проводили в 25 мкл реакционной смеси, содержащей 1 ЕД Diamant Fast ДНК-полимеразы (Институт микробиологии НАН Беларуси, Беларусь) и 2,5 мкл 10x-буфера, 1,5 mM MgCl<sub>2</sub>, праймеры (табл. 2), 2 мкл исследуемой ДНК и необходимый объем воды для ПЦР. Температурно-временной режим включал: 1 цикл при 95 °С в течение 3 мин, 35 циклов при 94 °С по 30 с, при 48 °С (53 °С для второй смеси) по 45 с и при 72 °С по 60 с, 1 цикл при 72 °С в течение 10 мин и последующее хранение при 4 °С. Электрофоретическую детекцию продуктов ПЦР-реакции осуществляли в 2 %-ном агарозном геле после проведения электрофореза в течение 80 мин при напряжении 7 В/см (рис. 1).

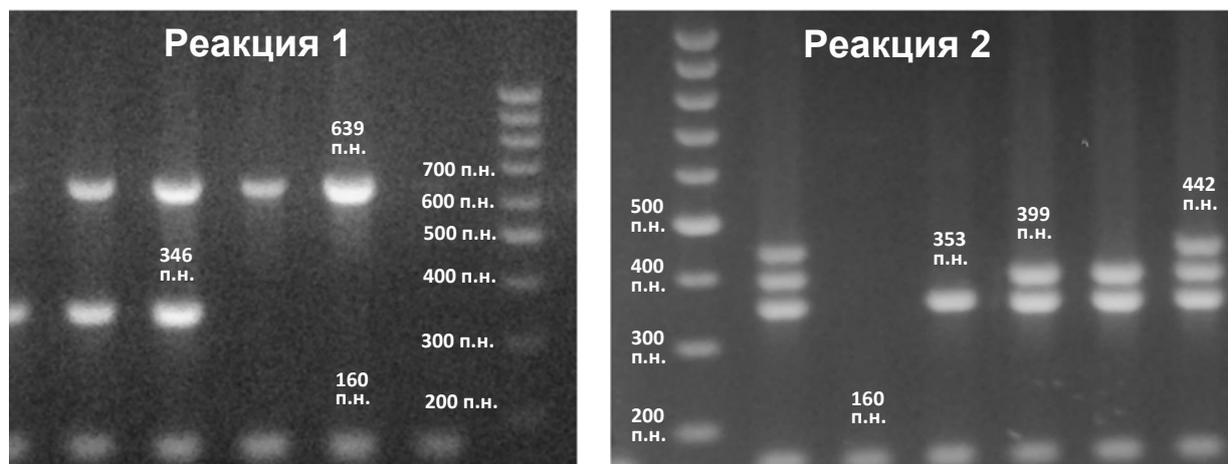


Рис. 1. Электрофореграммы продуктов реакций мультиплексной ПЦР для детекции детерминант резистентности пневмококка к макролидам/линкозамидам и бета-лактамам. Реакция 1: 160 п. н. – *cpsA*, внутренний положительный контроль; 346 п. н. – *mefA*; 639 п. н. – *ermB*; реакция 2: 160 п. н. – *cpsA*, внутренний положительный контроль; 353 п. н. – *pbp1a*; 399 п. н. – *pbp2x*; 442 п. н. – *pbp2b*

Fig. 1. Electrophoregrams of the reaction products of multiplex PCR for detection of determinants of resistance of pneumococcus to macrolides/lincosamides and beta-lactams. Reaction 1: 160 bp – *cpsA*, internal positive control; 346 bp – *mefA*; 639 bp – *ermB*; reaction 2: 160 bp – *cpsA*, internal positive control; 353 bp – *pbp1a*; 399 bp – *pbp2x*; 442 bp – *pbp2b*

Фенотипическую чувствительность к антибиотикам определяли методом микроразведений в бульоне в соответствии со стандартом CLSI (Институт клинических и лабораторных стандартов, США) M07-A10:2015 и международным стандартом ISO 20776-1:2006, рекомендованным EUCAST (Европейский комитет по определению чувствительности к противомикробным препаратам) [15]. Для определения клинической чувствительности штаммов полученные значения МПК интерпретировали с использованием критериев и пороговых значений CLSI 2017 [17].

Статистическую обработку данных проводили с помощью программы Statistica v.10 (StatSoft Inc., США). Для анализа достоверности различий долей качественных признаков в группах выполняли проверку статистических гипотез о равенстве относительных частот бинарных признаков. Для оценки влияния факторов на вероятность инфицирования штаммами пневмококка с различными профилями устойчивости к антибиотикам рассчитывали показатели отношения шансов (ОШ) с 95 %-ным доверительным интервалом. Статистическую значимость различий шансов наступления исхода в группах оценивали с помощью точного критерия Фишера. Результаты тестов считали статистически значимым при  $p < 0,05$ .

**Результаты исследования.** Зависимость между наличием детерминант резистентности к макролидам/линкозамидам и МПК эритромицина/клиндамицина 214 штаммов пневмококка представлена на рис. 2, 3. Генотипически чувствительные пневмококки (без исследованных детерминант резистентности) демонстрируют преимущественно показатели МПК штаммов «дикого» типа – 0,008–0,064 мг/л для эритромицина (86/88; 97,7 %) и 0,016–0,064 мг/л для клиндамицина (87/88; 98,9 %) и, соответственно, клиническую чувствительность к данным антибиотикам. Штаммы с наличием только гена *mefA* (эффлюкс протонный насос) характеризуются преимущественно (16/19; 84,2 %) резистентностью низкого уровня к эритромицину (МПК = 1–8 мг/л), но отсутствием резистентности к клиндамицину (МПК = 0,016–0,064 мг/л). Штаммы, несущие ген *ermB* (23S РНК-метилаза), демонстрируют резистентность высокого уровня к эритромицину (МПК  $\geq$  512 мг/л; 54/55 штаммов, или 98,2 %) и клиндамицину (МПК = 16–256 мг/л; 53/55 штаммов, или 96,4 %). Наличие гетерорезистентности (*mefA* + *ermB*) не влияет качественно на фенотипическую резистентность к данным антибиотикам (по сравнению с *ermB*-генотипом), но может повышать показатели МПК клиндамицина до 128–256 мг/л. Таким образом, четко прослеживается взаимосвязь между наличием детерминант резистентности, МПК эритромицина/клиндамицина и формированием клинической резистентности к ним. Наличие редких исключений из описанных тенденций – резистентность к эритромицину/клиндамицину среди штаммов без

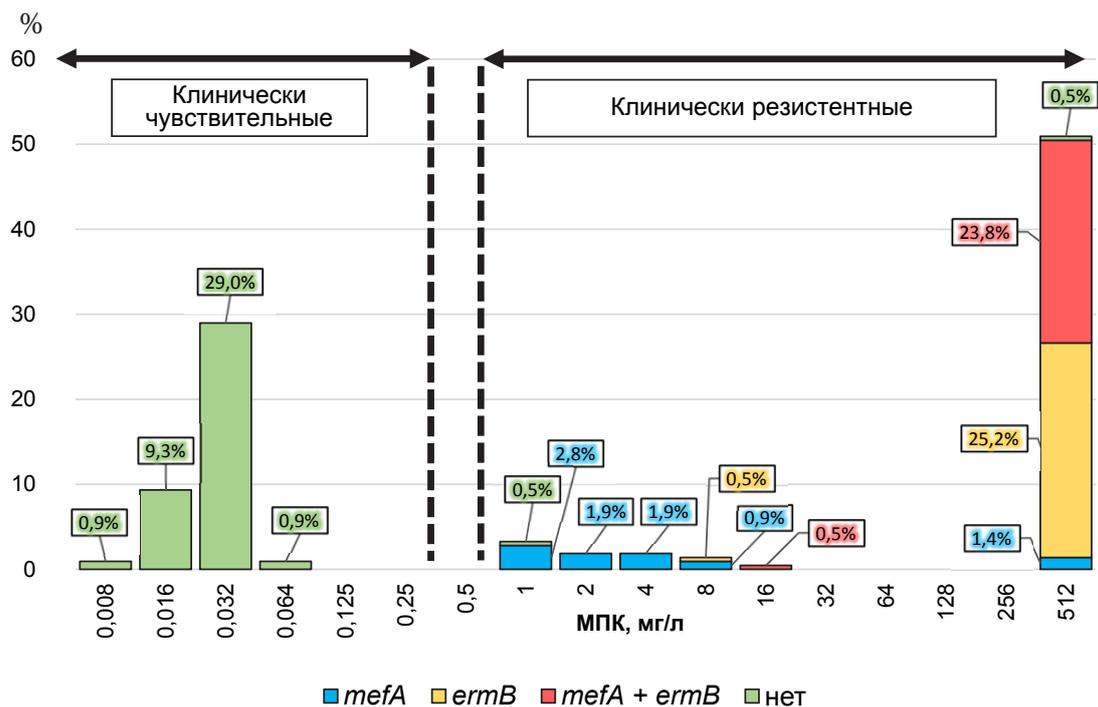


Рис. 2. Наличие детерминант резистентности к макролидам/линкозамидам у 214 штаммов пневмококка с различными показателями МПК эритромицина, %

Fig. 2. Presence of determinants of resistance to macrolides/lincosamides in 214 strains of pneumococcus with different indicators of minimum inhibitory concentrations of erythromycin, %

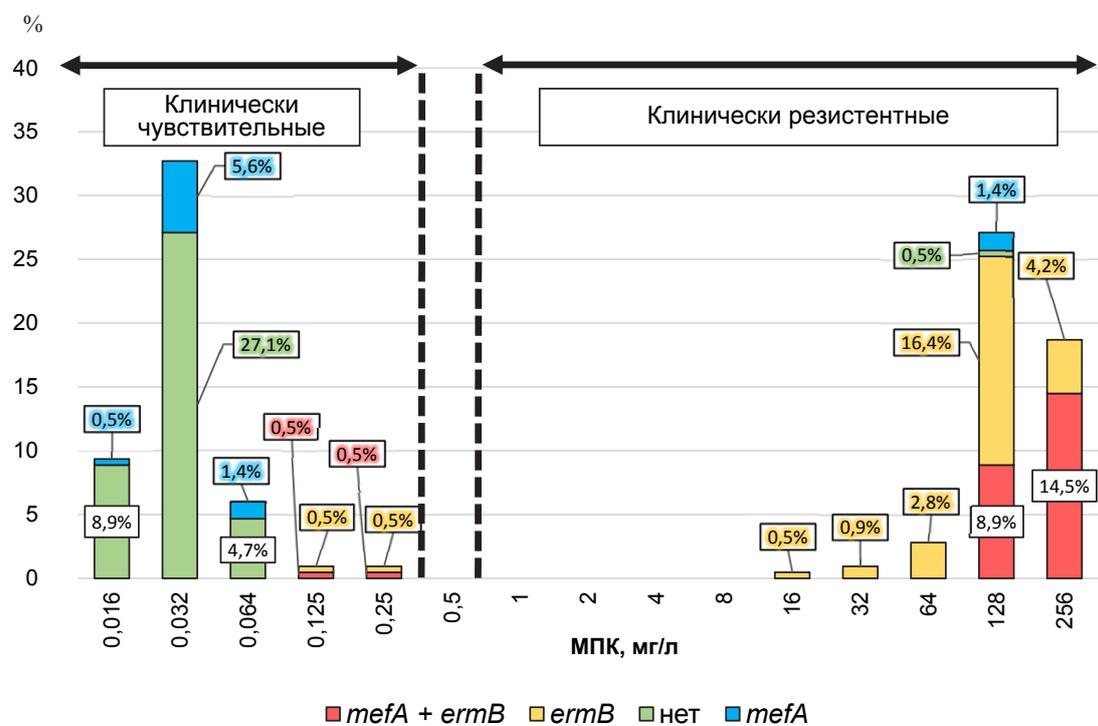


Рис. 3. Наличие детерминант резистентности к макролидам/линкозамидам у 214 штаммов пневмококка с различными показателями МПК клиндамицина, %

Fig. 3. Presence of determinants of resistance to macrolides/lincosamides in 214 strains of pneumococcus with various indicators of minimum inhibitory concentrations of clindamycin, %

детерминант резистентности (1–2 из 88 штаммов; 1,1–2,3 %), резистентность к клиндамицину и резистентность высокого уровня к эритромицину среди штаммов с *mefA*-генотипом (3/19; 15,8 %) – можно объяснить присутствием других механизмов резистентности, которые не изучались в данном исследовании. Так, в ряде работ описаны прочие механизмы резистентности пневмококка к макролидам/линкозамидам, но в целом они были охарактеризованы как крайне редкие (мутации в доменах II/V 23S рРНК [4, 18] или в рибосомальных белках L2, L4, L22 [2, 19]).

Однако генетический профиль детерминант резистентности указывает на предположительно крайне низкую роль других механизмов резистентности в формировании устойчивости к эритромицину и клиндамицину: 2/128 штаммов (1,6 %) и 4/107 штаммов (3,7 %) соответственно. Преобладающим же механизмом является посттранскрипционная модификация 23S рРНК, причем среди штаммов, резистентных как к клиндамицину (103/107, 96,3 %), так и к эритромицину (55/128, 43,0 %). Механизм эффлюкса за счет функционирования протонного насоса (ген *mefA*) обусловил 14,8 % (19/128) случаев резистентности к эритромицину, а гетерорезистентность (*mefA* + *ermB*) – 40,6 % (52/128). Наличие *ermB*-позитивных или гетерорезистентных штаммов (*mefA* + *ermB*) без клинической резистентности к клиндамицину можно объяснить отсутствием экспрессии данных генов в пределах небольшой группы штаммов (2 из 52–55 штаммов, 3,6–3,8 %).

Пневмококки, не несущие исследованные детерминанты резистентности к бета-лактамам, практически всегда демонстрируют показатели МПК штаммов «дикого» типа – 0,004–0,064 мг/л для пенициллина (73/74; 98,6 %) и 0,008–0,125 мг/л для цефотаксима (74/74; 100 %) и, соответственно, клиническую чувствительность к данным антибиотикам (табл. 3). Штаммы с модификацией только в одном ПСБ (*pbp1a* или *pbp2x*) характеризуются преимущественно (21/27; 77,8 %) резистентностью низкого уровня к пенициллину (МПК = 0,125–2 мг/л), но отсутствием резистентности к цефотаксиму (24/27; 88,9 %) на фоне повышения его МПК до 0,032–0,25 мг/л. Исключение составляют 3/16 (18,8 %) *pbp2x*-позитивных штаммов, которые демонстрируют резистентность к пенициллину (МПК = 1–2 мг/л) и промежуточную устойчивость к цефотаксиму (МПК = 1 мг/л), что можно объяснить наличием иных (не исследованных) механизмов резистентности. В ряде исследований приводятся прочие молекулярные механизмы, повышающие резистентность пневмококка к  $\beta$ -лактамам антибиотикам, такие как мутации в опероне *murMN*, кодирующем контролирующие биосинтез пептидогликана белки *MurM* и *MurN* [3, 20, 21]; мутации в гене *ciaH*, кодирующем гистидинкиназу, которая является частью двухкомпонентной регуляторной системы *ciaHR* [21].

Т а б л и ц а 3. Зависимость между наличием детерминант резистентности к бета-лактамам и МПК пенициллина/цефотаксима (мг/л) 214 штаммов пневмококка

Table 3. Dependence between the presence of determinants of resistance to beta-lactams and minimum inhibitory concentrations of penicillin/cefotaxime (mg/l) of 214 strains of pneumococcus

Детерминанты резистентности	К-во штаммов в зависимости от МПК пенициллина												К-во штаммов в зависимости от МПК цефотаксима								Всего штаммов, n (%)			
	чувствительных						резистентных*						чувствительных				нечувствительных*							
	≤0,004	0,008	0,016	0,032	0,064	0,125	0,25	0,5	1	2	4	8	0,008	0,016	0,032	0,064	0,125	0,25	0,5	1		2	4	8
Нет	11		25	34	3		1						9	14	46	4	1							74 (34,6)
Только <i>pbp1a</i>							7	4								1	3	7						11 (5,1)
Только <i>pbp2x</i>				2	4	6	1		2	1					1	7	4	1		3				16 (7,5)
<i>pbp1a</i> + 2x						1	4			1	40	8			3	2					32	12	5	54 (25,2)
<i>pbp1a</i> + 2b										1												1		1 (0,5)
<i>pbp2x</i> + 2b						1			2	2							1	2	1	1				5 (2,3)
<i>pbp1a</i> + 2x + 2b										37	14	2						2	6	42	1	2		53 (24,8)
Итого	11	–	25	36	7	8	13	4	4	42	54	10	9	14	47	15	10	9	4	10	75	14	7	214 (100)

\* Интерпретация выполнена с использованием пороговых значений для менингита.

Штаммы, несущие комбинацию двух (*pbp 1a + 2x* или *pbp 1a + 2b*, или *pbp 2x + 2b*) либо трех (*pbp 1a + 2x + 2b*) детерминант резистентности, всегда демонстрируют резистентность к пенициллину (МПК  $\geq 0,125$  мг/л) и в большинстве случаев (105/113; 92,9 %) характеризуются высокими показателями МПК (2–8 мг/л), а также нечувствительностью (103/113; 91,2 %) к цефотаксиму (МПК = 1–8 мг/л). Примечательно, что более высокие показатели МПК бета-лактамов обнаруживаются у штаммов с наличием двух модификаций (*pbp 1a + 2x*), чем у штаммов с профилем *pbp 1a + 2x + 2b*. С другой стороны, добавление модификаций *pbp2b* к генотипу *pbp2x* увеличивает МПК цефотаксима от 0,032–1 до 0,25–2 мг/л.

Описанные взаимосвязи между наличием генетических детерминант резистентности к бета-лактамам, макролидам/линкозамидам и формированием клинической резистентности к соответствующим антибиотикам создают предпосылки для использования молекулярного обнаружения данных механизмов устойчивости с целью прогнозирования фенотипической резистентности. Показатели информативности возможных диагностических тестов, рассчитанные на основе изучения выделенных в регионе пневмококков, представлены в табл. 4.

Т а б л и ц а 4. Показатели информативности молекулярных методов определения клинической резистентности пневмококка к бета-лактамам, макролидам и линкозамидам ( $n = 214$ )

Table 4. Informational indicators of the molecular methods for determining the clinical resistance of pneumococcus to beta-lactams, macrolides and lincosamides ( $n = 214$ )

Детерминанты резистентности	Предсказанная фенотипическая устойчивость к антибиотику	Чувствительность	Специфичность
<i>mefA</i> или <i>ermB</i>	Эритромицин	126/128 (98,4 %)	86/86 (100 %)
<i>ermB</i>	Клиндамицин	103/107 (96,3 %)	103/107 (96,3 %)
Модификации в одном-трех <i>pbp</i>	Пенициллин (резистентность низкого уровня – МПК $\geq 0,125$ мг/л)	134/135 (99,3 %)	73/79 (92,4 %)
Модификации в двух-трех <i>pbp</i>	Цефотаксим (нечувствительность при менингите – МПК $\geq 1$ мг/л)	103/106 (97,2 %)	98/108 (90,7 %)

Для оценки общей и внутрисеротиповой распространенности детерминант резистентности к макролидам/линкозамидам и бета-лактамам в циркулирующей в регионе популяции пневмококка всего был проанализирован 551 штамм (табл. 5). Среди всех штаммов 60,1 % (331/551) характеризовались наличием как минимум одного механизма резистентности к макролидам/линкозамидам. Распространенность эффлюкса (*mefA*) составила 36,1 % (199/551), а метилирования 23S РНК (*ermB*) – 46,1 % (254/551), причем 22,1 % (122/551) среди данных штаммов обладали сразу двумя механизмами. Наиболее распространенными механизмами резистентности к бета-лактамам являлись модификации *pbp1a* и *pbp2x*, которые встречались с частотой 57,0 % (314/551) и 56,1 % (309/551) соответственно; изменения в *pbp2b* наблюдались реже – у 27,0 % (149/551) штаммов. Среди всех штаммов 65,3 % (360/551) имели как минимум одну модификацию *pbp*, 26,1 % (144/551) – две модификации и 24,3 % (134/551) – все три исследованные модификации *pbp*. Серотипы, наиболее ассоциированные с генотипической резистентностью к данным классам антибиотиков: 14 (90,1 % из 71 штамма были устойчивы к макролидам/линкозамидам, 98,6 % – к бета-лактамам), 19А (90,9 и 90,9 % из 33 штаммов), 19F (88,1 и 90,4 % из 135 штаммов) и 6В/6А (86,3 и 89,5 % из 95 штаммов), в меньшей мере – серотипы 35А/35С/42 (9 и 1 % из 9 штаммов), 23F (32,7 и 65,3 % из 49 штаммов), 7F/7А (0 и 4 % из 7 штаммов) и 9V/9А (6,7 и 46,7 % из 15 штаммов). Следует отметить, что все данные серотипы (кроме 35А/35С/42) являются «педиатрическими» и преимущественно входят в состав всех пневмококковых вакцин (ПКВ10, ПКВ13, ППСВ23), за исключением серотипов 19А, 6А (суммарно 33–128 из 551 штамма; 6,0–23,2 %), не включенных в состав ПКВ10 (но включенных в ПКВ13), и серотипов 35А/35С/42 (9/551; 1,6 %), являющихся невакцинными. Среди серотипов 5, 3, 11А/Д, 15В/15С, 6С/6Д, 15А/15F, 34 и 35В выявлялись лишь единичные штаммы с генотипической резистентностью, распространенность которой можно охарактеризовать как низкую (3-й серотип – 10,3 и 0 % из 29 штаммов; 15В/15С – 13,3 и 13,3 % из

15 штаммов) либо как не поддающуюся оценке ввиду общей низкой встречаемости данных серотипов. Среди серотипов 1, 18C/18F/18B/18A, 8, 9N/9L, 10A, 12F/12A/12B/44/46, 17F, 22F/22A, 33F/33A/37, 10B, 10F/10C/33C, 13, 16F, 23A, 28A, 31, 35F/47F, 39 не было выявлено генотипически резистентных штаммов.

Анализ распространенности отдельных механизмов устойчивости позволил установить особенности генотипической резистентности штаммов пневмококка у пациентов с разными формами инфекции и носительством (рис. 4). Так, доля генетически резистентных штаммов варьировалась в пределах 44,4–70,3 % для макролидов/линкозамидов и 50,0–77,1 % для бета-лактамов; была наибольшей при остром среднем отите (70,3 % к макролидам/линкозамидам и 77,1 % к бета-лактамам) и наименьшей при остром синусите (44,4 % к макролидам/линкозамидам и 50,0 % к бета-лактамам). В целом, распространенность генетически резистентных штаммов среди групп пациентов возрастала в следующем ряду: острый синусит, менингит и другие инвазивные формы, пневмония, здоровое носительство, носительство с инфекцией верхних дыхательных путей, конъюнктивит, острый средний отит. Распространенность эфлюкса (*mefA*) составила 8,2–18,0 %

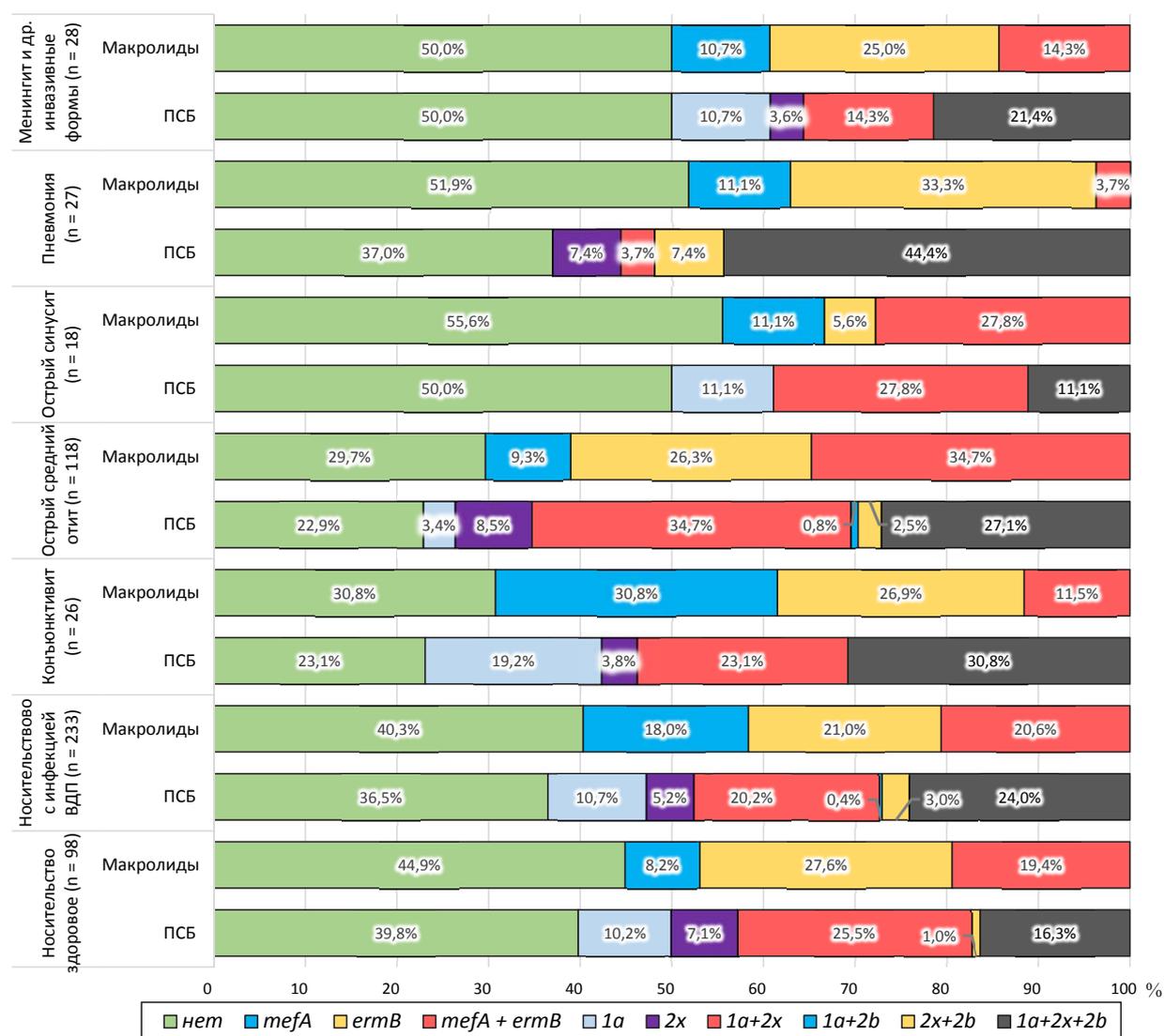


Рис. 4. Встречаемость детерминант резистентности к макролидам/линкозамидам и бета-лактамам среди 548 штаммов пневмококка, выделенных при различных формах инфекции

Fig. 4. Frequency of determinants of resistance to macrolides/lincosamides and beta-lactams in 548 strains of pneumococcus with different infection forms

и существенно не отличалась при разных формах инфекции, за исключением конъюнктивита (30,8 %). Метилирование 23S РНК (*ermB*) примерно равновероятно встречалось при всех формах (21,0–27,6 %), за исключением пневмонии (33,3 %) и острого синусита (5,6 %). Гетерорезистентность (*mefA* + *ermB*) к макролидам/линкозамидам характеризовалась как низкой встречаемостью (пневмония – 3,7 %), так и высокой (острый синусит – 27,8 %, острый средний отит – 34,7 %); при других формах она варьировалась в пределах 11,5–20,6 %.

Среди профилей генотипической резистентности к бета-лактамам модификация одного *pbp* (*1a* или *2x*) наблюдалась с частотой 7,4–23,0 % при разных формах. Встречаемость двух модификаций *pbp* (*1a* + *2x* или *1a* + *2b*, или *2x* + *2b*) варьировалась в пределах 11,1–27,8 %, за исключением острого среднего отита (38,0 %). Три модификации *pbp* (*1a* + *2x* + *2b*) наблюдались с частотой 11,1–30,8 %, кроме пневмонии (44,4 %). Встречаемость отдельных механизмов резистентности распределилась следующим образом: мутации в *pbp1a* обнаруживались у 46,4–55,4 % штаммов, за исключением таких форм инфекции, как острый средний отит и конъюнктивит, где эти показатели составили 66,1 и 73,1 % соответственно. Модификации *pbp2x* были распространены с частотой 50,0–57,7 %, кроме форм инфекции с более высоким распространением (пневмония – 63,0 %, острый средний отит – 72,9 %) и более низким (острый синусит – 38,9 %, менингит – 39,3 %). Мутации в *pbp2b* обнаружены у 17,3–30,8 % штаммов, кроме острого синусита (11,1 %) и пневмонии (51,9 %).

Случаи носительства (как здорового, так и с инфекцией верхних дыхательных путей) демонстрируют сходные уровни распределения различных механизмов резистентности к макролидам и β-лактамам и штаммов «дикого» типа, что может свидетельствовать о том, что выделенные штаммы происходят из единой популяции пневмококка.

**Обсуждение.** Проблема резистентности *S. pneumoniae* к антимикробным лекарственным средствам не только не теряет актуальности во всем мире, но и выходит на передний план среди основных внебольничных возбудителей инфекционных заболеваний человека. Так, резистентность инвазивных изолятов пневмококка, выделенных в странах – участницах сети CAESAR (эпидемиологический надзор за резистентностью к антибиотикам в Центральной Азии и Восточной Европе), в 2016 г. колебалась в пределах 6–47 % к пенициллинам и 9–45 % к макролидам [22]. Возникновение штаммов с комбинацией различных механизмов резистентности вызывает особую тревогу, поскольку они связаны с мультирезистентными и чрезвычайно резистентными клонами, получившими доминирующее распространение в популяции [23]. Во многих регионах мира по результатам продолжительного мониторинга в довакцинальную эру наблюдался постоянный рост уровней резистентности пневмококка к β-лактамам, макролидам и линкозамидам, а в Беларуси, по данным наших предыдущих исследований, уровни резистентности весьма высоки. В данной публикации дается полная молекулярно-генетическая характеристика штаммов, описанных фенотипически ранее [24–26]. Так, в ходе исследования 551 изолята *S. pneumoniae*, выделенного на территории страны, было установлено, что 60 % из них характеризовались наличием как минимум одного механизма резистентности к макролидам/линкозамидам, а распространенность гетерорезистентности (*mefA* + *ermB*) составила 22 %. Среди данных штаммов 65 % имели как минимум одну модификацию *pbp*, 26 % – две модификации и 24 % – все три исследованные модификации *pbp*.

Доминирующим механизмом резистентности к макролидам является метилирование 23S РНК (ген *ermB*), который был обнаружен у 43 % генетически резистентных изолятов. В исследованиях зарубежных авторов показано, что доминирование механизма резистентности, обусловленного действием продукта гена *ermB*, характерно для пневмококков в России (54 %) [23], ряде стран Европы (более 75 %) [3, 4, 19] и в Африке (Тунис) [27]. Доминирующий в США [18, 27], Австралии [27], некоторых странах Западной Европы (Германия – 33 %, Греция – 100 %) [4] и Азии (Иран) [9, 20] механизм резистентности к макролидам, обусловленный эффлюксом (*mefA*), был обнаружен у 15 % генетически резистентных пневмококков. Комбинация двух механизмов (*mefA* + *ermB*) была отмечена у 41 % изолятов. Преобладание в популяции более эффективного механизма (*ermB*), а также высокая доля гетерорезистентных штаммов (*mefA* + *ermB*) по сравнению с дру-

гими регионами, вероятно, обуславливает наблюдаемые высокие уровни фенотипической резистентности пневмококков.

Кроме того, установлено, что среди генетически резистентных к пенициллину изолятов пневмококка чаще всего встречались комбинации модификаций генов *pbp 1a + 2x + 2b* или *pbp 1a + 2x* (по 39–40 %) и отсутствовал генотип резистентности, обусловленный модификацией только *pbp2b*. Роль модификаций *pbp1a*, *pbp2x* и *pbp2b* в увеличении резистентности к β-лактамам как отдельно, так и в различных комбинациях исследована учеными разных стран мира. Так, японскими учеными описана высокая частота встречаемости комбинации модификаций генов *pbp 1a + 2x + 2b* (более 30 %) и отсутствие изолятов с изменениями *pbp2b* [11], а иранские исследователи установили, что генетическая резистентность обусловлена действием *pbp1a* и *pbp1x* [20].

Пневмококки, обладающие молекулярными механизмами резистентности к макролидам/линкозамидам и β-лактамам, в абсолютном большинстве относились к «педиатрическим» серотипам, в той или иной мере включенным в состав антипневмококковых вакцин: 19A (91 % резистентных к макролидам, 91 % – к β-лактамам), 14 (90 %/99 %), 19F (88 %/90 %), 6A/B (86 %/90 %) и 23F (33 %/65 %), что соответствует данным, полученным в других странах. Так, в России доминирующими серотипами, резистентными к пенициллину, являются 19A (90 %), 14 (64 %), 19F (57 %) и 23F (32 %), а резистентные к эритромицину штаммы относятся к серотипам 19A (58 %), 19F (52 %) и 6B (46 %) [23]. В странах Западной Европы повышенной резистентностью к β-лактамам и макролидам обладали серотипы 23F (31 %/16 %), 14 (25 %/31 %) и 6B (16 %/15 %) [4, 28]. Однако следует отметить, что в нашем исследовании серотип 35A/35C/42 также демонстрирует высокий уровень генетической резистентности к макролидам (*ermB* – 100 % из 9 штаммов), а также к β-лактамам (*pbp 2x + 2b* – 11 % из 9 штаммов), что вызывает обеспокоенность, поскольку он не входит в состав существующих антипневмококковых вакцин. Также выявлены единичные штаммы, обладающие генетической резистентностью одновременно к β-лактамам и макролидам/линкозамидам серотипов 6C/D и 15A/15F, а также к β-лактамам – 35B. Штаммы «дикого» типа (генетически чувствительные к макролидам/линкозамидам и β-лактамам) относились как к вакцинным (1, 8, 9N/9L, 10A, 12F/12A/12B/44/46, 33F/33A/37), так и к невакцинным (10B, 10F/10C/33C, 13, 16F, 23A, 28A, 31, 35F/47F, 39) серотипам.

Для быстрого получения сведений о чувствительности изолятов пневмококков к β-лактамам, макролидам, линкозамидам, а также для скрининга резистентности напрямую в клинических образцах, предположительно содержащих ДНК *S. pneumoniae*, целесообразно продолжить разработку описанного молекулярно-генетического метода с целью его внедрения. Выполненное исследование на обширной коллекции штаммов, циркулирующих в регионе, демонстрирует высокие показатели чувствительности и специфичности данного метода в отношении прогнозирования фенотипической резистентности на основании генотипической к пенициллину и цефотаксиму (специфичность – не менее 91 %, чувствительность – не менее 97 %) и к эритромицину/клиндамицину (специфичность и чувствительность – не менее 96 %).

**Заключение.** Таким образом, по результатам нашего исследования приведены данные о распространении отдельных генетических механизмов резистентности в циркулирующей в регионе популяции пневмококков, описаны формирующиеся и циркулирующие генотипы штаммов и определена их роль в общей структуре популяции, а также выявлена их взаимосвязь с фенотипическими характеристиками штаммов (серотип, клиническая резистентность) и клинико-эпидемиологическими свойствами (форма инфекции). Описанные взаимосвязи между наличием генетических детерминант резистентности к β-лактамам, макролидам/линкозамидам и формированием клинической резистентности к соответствующим антимикробным лекарственным средствам позволяют с достаточно высокими показателями чувствительности и специфичности прогнозировать резистентность изолятов *S. pneumoniae* в течение 2–4 ч с момента получения клинического образца, что позволит в ранние сроки назначать рациональную этиотропную антибиотикотерапию.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

## СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Белошицкий, Г. В. Пневмококковые менингиты в Российской Федерации / Г. В. Белошицкий, И. С. Королева, Н. И. Кошкина // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. – 2009. – № 2. – С. 21–26.
2. Biological and epidemiological features of antibiotic-resistant *Streptococcus pneumoniae* in pre- and post-conjugate vaccine eras: a United States perspective / L. Kim [et al.] // Clin. Microbiol. Rev. – 2016. – Vol. 29, N 3. – P. 525–552. <https://doi.org/10.1128/cmr.00058-15>
3. Molecular mechanisms and epidemiology of resistance in *Streptococcus pneumoniae* in the Middle East region / G. El Moujaber [et al.] // J. Med. Microbiol. – 2017. – Vol. 66, N 7. – P. 847–858. <https://doi.org/10.1099/jmm.0.000503>
4. Molecular epidemiology of macrolide-resistant *Streptococcus pneumoniae* isolates in Europe / R. R. Reinert [et al.] // J. Clin. Microbiol. – 2005. – Vol. 43, N 3. – P. 1294–1300. <https://doi.org/10.1128/jcm.43.3.1294-1300.2005>
5. Central Asian and Eastern European surveillance of antimicrobial resistance. Annual report 2016 / World Health Organization. – Copenhagen : WHO, 2016. – 133 p.
6. Substitutions in PBP2b from  $\beta$ -lactam-resistant *Streptococcus pneumoniae* have different effects on enzymatic activity and drug reactivity / P. Calvez [et al.] // J. Biol. Chem. – 2017. – Vol. 292, N 7. – P. 2854–2865. <https://doi.org/10.1074/jbc.m116.764696>
7. Reinert, R. R. The antimicrobial resistance profile of *Streptococcus pneumoniae* / R. R. Reinert // Clin. Microbiol. Infect. – 2009. – Vol. 15, suppl. 3. – P. 7–11. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2009.02724.x>
8. Внебольничная пневмония у взрослых: практические рекомендации по диагностике, лечению и профилактике / А. Г. Чучалин [и др.] // Инфекц. болезни: новости, мнения, обучение. – 2013. – № 2 (3). – С. 91–123.
9. Antimicrobial susceptibility and analysis of macrolide resistance genes in *Streptococcus pneumoniae* isolated in Hamadan / M. N. Mosleh [et al.] // Iran. J. Basic Med. Sci. – 2014. – Vol. 17, N 8. – P. 595–599.
10. Quadriplex real-time polymerase chain reaction (lytA, mef, erm, pbp2bwt) for pneumococcal detection and assessment of antibiotic susceptibility / V. Srinivasan [et al.] // Diagn. Microbiol. Infect. Dis. – 2011. – Vol. 71, N 4. – P. 453–456. <https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2011.08.017>
11. Rapid identification of penicillin and macrolide resistance genes and simultaneous quantification of *Streptococcus pneumoniae* in purulent sputum samples by use of a novel real-time multiplex PCR assay / K. Y. Fukushima [et al.] // J. Clin. Microbiol. – 2008. – Vol. 46, N 7. – P. 2384–2388. <https://doi.org/10.1128/jcm.00051-08>
12. World Health Organization. Laboratory methods for the diagnosis of meningitis caused by *Neisseria meningitidis*, *Streptococcus pneumoniae*, and *Haemophilus influenzae* : WHO manual / World Health Organization, Centers for Disease Control and Prevention. – Pub. 2. – WHO/IVB.11.09, 2011. – 311 p.
13. Серотиповая характеристика штаммов *Streptococcus pneumoniae*, выделенных у детей с острыми средними отитами и синуситами / А. В. Давыдов [и др.] // Здоровоохранение. – 2016. – № 3. – С. 12–20.
14. Давыдов, А. В. Использование мультиплексной ПЦР для серотипирования штаммов *Streptococcus pneumoniae* в рамках осуществления мониторинга пневмококковой инфекции в Беларуси / А. В. Давыдов, Л. П. Титов, А. Н. Хархаль // Молекулярная диагностика 2017 : сб. тр. IX Всерос. науч.-практ. конф. с междунар. участием (Москва, 18–20 апр. 2017 г.) : в 2 т. / Федер. служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека [и др.] ; под ред. В. И. Покровского. – М., 2017. – Т. 2. – С. 336–338.
15. Antimicrobial wild type distributions of microorganisms [Electronic resource] // EUCAST. – Mode of access : <https://mic.eucast.org/Eucast2/SearchController/search.jsp?action=performSearch&BeginIndex=0&Micdif=mic&NumberIndex=50&Antib=-1&Specium=12>. – Date of access : 02.12.2017.
16. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically; Approved standard. – 10th ed. CLSI document M07-A10. – Wayne, PA : Clinical and Laboratory Standards Institute, 2015. – 94 p.
17. CLSI. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. CLSI supplement M100 / CLSI. – Pub. 27th. – Wayne, PA : Clinical and Laboratory Standards Institute, 2017. – 224 p.
18. Predominance of 23S rRNA mutants among non-erm, non-mef macrolide-resistant clinical isolates of *Streptococcus pneumoniae* collected in the United States in 1999–2000 / T. A. Davies [et al.] // Antimicrob. Agents Chemother. – 2005. – Vol. 49, N 7. – P. 3031–3033. <https://doi.org/10.1128/aac.49.7.3031-3033.2005>
19. Susceptibilities to telithromycin and six other agents and prevalence of macrolide resistance due to L4 ribosomal protein mutation among 992 Pneumococci from 10 central and Eastern European countries / K. Nagai [et al.] // Antimicrob. Agents Chemother. – 2002. – Vol. 46, N 2. – P. 371–377. <https://doi.org/10.1128/aac.46.2.371-377.2002>
20. Kargar, M. M. Multi-drug resistance and molecular pattern of erythromycin and penicillin resistance genes in *Streptococcus pneumoniae* / M. Kargar, M. Baghernejad, D. S. Ghorbani // Afr. J. Biotechnol. – 2012. – Vol. 11, N 4. – P. 968–973. <https://doi.org/10.5897/ajb11.2783>
21. New aspects of the interplay between penicillin binding proteins, murM, and the two-component system CiaRH of penicillin-resistant *Streptococcus pneumoniae* serotype 19A isolates from Hungary / I. Schweizer [et al.] // Antimicrob. Agents Chemother. – 2017. – Vol. 61, N 7. – P. e00414–e00417. <https://doi.org/10.1128/aac.00414-17>
22. Central Asian and Eastern European surveillance of antimicrobial resistance. Annual report 2017 / World Health Organization. – Copenhagen : WHO, 2018. – 135 p.
23. Serotypes and antibiotic resistance of non-invasive *Streptococcus pneumoniae* circulating in pediatric hospitals in Moscow, Russia / N. Mayanskiy [et al.] // Int. J. Infect. Dis. – 2014. – Vol. 20. – P. 58–62. <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2013.11.005>

24. Чувствительность к антибиотикам штаммов *Streptococcus pneumoniae*, выделенных от пациентов с менингитом в Беларуси / А. В. Давыдов [и др.] // Здоровоохранение. – 2018. – № 1. – С. 22–32.
25. Чувствительность к антибиотикам штаммов *Streptococcus pneumoniae*, выделенных от пациентов с пневмонией в Беларуси / А. В. Давыдов [и др.] // Мед. новости. – 2017. – № 12. – С. 74–82.
26. Чувствительность к антибиотикам и связь с серотипами штаммов *Streptococcus pneumoniae* у детей с острым средним отитом и острым синуситом в Беларуси / А. В. Давыдов [и др.] // Клин. микробиол. и антимикроб. химиотер. – 2018. – Т. 20, № 3. – С. 206–215.
27. Phenotype, genotype, and serotype distribution of macrolide resistant invasive and non-invasive *Streptococcus pneumoniae* strains, in Sousse, Tunisia / M. Marzouk [et al.] // Med. Mal. Infect. – 2014. – Vol. 44, N 10. – P. 478–482. <https://doi.org/10.1016/j.medmal.2014.07.016>
28. Molecular epidemiology of penicillin-non-susceptible *Streptococcus pneumoniae* isolates from children with invasive pneumococcal disease in Germany / R. R. Reinert [et al.] // Clin. Microbiol. Infect. – 2007. – Vol. 13, N 4. – P. 363–368. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2006.01676.x>

## References

1. Beloshitskii G. V., Koroleva I. S., Koshkina N. I. Pneumococcal meningitis in Russian Federation. *Epidemiologiya i vaktsinoprofilaktika* [Epidemiology and vaccine prevention], 2009, no. 2, pp. 21–26 (in Russian).
2. Kim L., McGee L., Tomczyk S., Beall B. Biological and epidemiological features of antibiotic-resistant *Streptococcus pneumoniae* in pre- and post-conjugate vaccine eras: a United States perspective. *Clinical Microbiology Reviews*, 2016, vol. 29, no. 3, pp. 525–552. <https://doi.org/10.1128/cmr.00058-15>
3. El Moujaber G., Osman M., Rafei R., Dabboussi F., Hamze M. Molecular mechanisms and epidemiology of resistance in *Streptococcus pneumoniae* in the Middle East region. *Journal of Medical Microbiology*, 2017, vol. 66, no. 7, pp. 847–858. <https://doi.org/10.1099/jmm.0.000503>
4. Reinert R. R., Ringelstein A., van der Linden M., Cil M. Y., Al-Lahham A., Schmitz F.-J. Molecular epidemiology of macrolide-resistant *Streptococcus pneumoniae* isolates in Europe. *Journal of Clinical Microbiology*, 2005, vol. 43, no. 3, pp. 1294–1300. <https://doi.org/10.1128/jcm.43.3.1294-1300.2005>
5. *Central Asian and Eastern European surveillance of antimicrobial resistance. Annual report 2016*. Copenhagen, World Health Organization, 2016. 133 p.
6. Calvez P., Breukink E., Roper D. I., Dib M., Contreras-Martel C., Zapun A. Substitutions in PBP2b from  $\beta$ -lactam-resistant *Streptococcus pneumoniae* have different effects on enzymatic activity and drug reactivity. *Journal of Biological Chemistry*, 2017, vol. 292, no. 7, pp. 2854–2865. <https://doi.org/10.1074/jbc.m116.764696>
7. Reinert R. R. The antimicrobial resistance profile of *Streptococcus pneumoniae*. *Clinical Microbiology and Infection*, 2009, vol. 15, suppl. 3, pp. 7–11. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2009.02724.x>
8. Chuchalin A. G., Sinopal'nikov A. I., Kozlov R. S., Tyurin I. E., Rachina S. A. Community-acquired pneumonia in adults: practical recommendations on diagnosis, therapy and prophylaxis. *Infektsionnye Infektsionnye bolezni: novosti, mneniya, obuchenie* [Infectious diseases: news, opinions, training], 2013, no. 2 (3), pp. 91–123 (in Russian).
9. Mosleh M. N., Gharibi M., Alikhani M. Y., Saidijam M., Vakhshiteh F. Antimicrobial susceptibility and analysis of macrolide resistance genes in *Streptococcus pneumoniae* isolated in Hamadan. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*, 2014, vol. 17, no. 8, pp. 595–599.
10. Srinivasan V., du Plessis M., Beall B. W., McGee L. Quadriplex real-time polymerase chain reaction (lytA, mef, erm, pbp2bwt) for pneumococcal detection and assessment of antibiotic susceptibility. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 2011, vol. 71, no. 4, pp. 453–456. <https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2011.08.017>
11. Fukushima K. Y., Yanagihara K., Hirakata Y., Sugahara K., Morinaga Y., Kohno S., Kamihira S. Rapid identification of penicillin and macrolide resistance genes and simultaneous quantification of *Streptococcus pneumoniae* in purulent sputum samples by use of a novel real-time multiplex PCR assay. *Journal of Clinical Microbiology*, 2008, vol. 46, no. 7, pp. 2384–2388. <https://doi.org/10.1128/jcm.00051-08>
12. *World Health Organization. Laboratory methods for the diagnosis of meningitis caused by Neisseria meningitidis, Streptococcus pneumoniae, and Haemophilus influenzae: WHO manual*. World Health Organization, Centers for Disease Control and Prevention. Pub. 2. WHO/IVB.11.09, 2011. 311 p.
13. Davydov A. V., Titov L. P., Klyuiko N. L., Gurinovich V. V. Serotype characteristic of *Streptococcus pneumoniae* strains isolated from children with acute otitis media and sinusitis. *Zdravookhranenie* [Healthcare], 2016, no. 3, pp. 12–20 (in Russian).
14. Davydov A. V., Titov L. P., Kharkhal' A. N. The usage of multiplex PCR for serogenotyping the strains of *Streptococcus pneumoniae* as a part of the monitoring for pneumococcal infection in Belarus. *Molekulyarnaya diagnostika 2017: sbornik trudov IX Vserossiiskoi nauchno-prakticheskoi konferentsii s mezhdunarodnym uchastiem (Moskva, 18–20 aprelya 2017 goda). Tom 2* [Molecular diagnostics 2017: proceedings of the IX All-Russian scientific and practical conference with international participation (Moscow, April 18–20, 2017). Vol. 2]. Moscow, 2017, pp. 336–338 (in Russian).
15. Antimicrobial wild type distributions of microorganisms. *EUCAST*. Available at: <https://mic.eucast.org/Eucast2/SearchController/search.jsp?action=performSearch&BeginIndex=0&Micdif=mic&NumberIndex=50&Antib=-1&Specium=12> (accessed 02.12.2017).
16. *Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically; Approved standard. 10th ed.* CLSI document M07-A10. Wayne, PA, Clinical and Laboratory Standards Institute, 2015. 94 p.

17. CLSI. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. CLSI supplement M100. CLSI. Pub. 27th. Wayne, PA, Clinical and Laboratory Standards Institute, 2017. 224 p.
18. Davies T. A., Bush K., Sahn D., Evangelista A. Predominance of 23S rRNA mutants among non-erm, non-mef macrolide-resistant clinical isolates of *Streptococcus pneumoniae* collected in the United States in 1999–2000. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2005, vol. 49, no. 7, pp. 3031–3033. <https://doi.org/10.1128/aac.49.7.3031-3033.2005>
19. Nagai K., Appelbaum P. C., Davies T. A., Kelly L. M., Hoellman D. B., Andrasevic A. T. [et al.]. Susceptibilities to telithromycin and six other agents and prevalence of macrolide resistance due to L4 ribosomal protein mutation among 992 *Streptococcus pneumoniae* from 10 central and Eastern European countries. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2002, vol. 46, no. 2, pp. 371–377. <https://doi.org/10.1128/aac.46.2.371-377.2002>
20. Kargar M., Baghernejad M., Ghorbani D. S. Multi-drug resistance and molecular pattern of erythromycin and penicillin resistance genes in *Streptococcus pneumoniae*. *African Journal of Biotechnology*, 2012, vol. 11, no. 4, pp. 968–973. <https://doi.org/10.5897/ajb11.2783>
21. Schweizer I., Blättner S., Maurer P., Peters K., Vollmer D., Vollmer W., Hakenbeck R., Denapaite D. New aspects of the interplay between penicillin binding proteins, murM, and the two-component system CiaRH of penicillin-resistant *Streptococcus pneumoniae* serotype 19A isolates from Hungary. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2017, vol. 61, no. 7, pp. e00414–e00417. <https://doi.org/10.1128/aac.00414-17>
22. *Central Asian and Eastern European surveillance of antimicrobial resistance. Annual report 2017*. Copenhagen, World Health Organization, 2018. 135 p.
23. Mayanskiy N., Alyabieva N., Ponomarenko O., Lazareva A., Katosova L., Ivanenko A., Kulichenko T., Namazova-Baranova L., Baranov A. Serotypes and antibiotic resistance of non-invasive *Streptococcus pneumoniae* circulating in pediatric hospitals in Moscow, Russia. *International Journal of Infectious Diseases*, 2014, vol. 20, pp. 58–62. <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2013.11.005>
24. Davydov A. V., Titov L. P., Kharkhal' A. N., Klyuiko N. L., Baraulya V. G., Rogacheva T. A. Antibiotic susceptibility of *Streptococcus pneumoniae* strains isolated from patients with meningitis in Belarus. *Zdravookhranenie* [Healthcare], 2018, no. 1, pp. 22–32 (in Russian).
25. Davydov A. V., Titov L. P., Klyuiko N. L., Levshina N. N., Kharkhal' A. N., Madzharova O. A., Belanovskaya L. I. Antibiotic susceptibility of *Streptococcus pneumoniae* strains isolated from patients with pneumonia in Belarus. *Meditinskije novosti* [Medical news], 2017, no. 12, pp. 74–82 (in Russian).
26. Davydov A. V., Titov L. P., Klyuiko N. L., Gurinovich V. V., Lazarev A. V. Antimicrobial susceptibility and association with serotypes of *Streptococcus pneumoniae* isolates in children with acute otitis media and acute sinusitis in Belarus. *Klinicheskaya mikrobiologiya i antimikrobnaya khimioterapiya* [Clinical microbiology and antimicrobial chemotherapy], 2018, vol. 20, no. 3 (in Russian).
27. Marzouk M., Ferjani A., Amamou S., Alibi S., Haj Ali M., Boukadida J. Phenotype, genotype, and serotype distribution of macrolide resistant invasive and non-invasive *Streptococcus pneumoniae* strains, in Sousse, Tunisia. *Médecine et Maladies Infectieuses*, 2014, vol. 44, no. 10, pp. 478–482. <https://doi.org/10.1016/j.medmal.2014.07.016>
28. Reinert R. R., van der Linden M., Seegmüller I., Al-Lahham A., Siedler A., Weißmann B., Toschke A. M., von Kries R. Molecular epidemiology of penicillin-non-susceptible *Streptococcus pneumoniae* isolates from children with invasive pneumococcal disease in Germany. *Clinical Microbiology and Infection*, 2007, vol. 13, no. 4, pp. 363–368. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2006.01676.x>

## Информация об авторах

Давыдов Александр Владимирович – ассистент. Белорусский государственный медицинский университет (пр. Дзержинского, 83, 220116, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: alexander.davydovv@gmail.com

Титов Леонид Петрович – член-корреспондент, д-р мед. наук, профессор, заведующий лабораторией. Республиканский научно-практический центр эпидемиологии и микробиологии (ул. Филимонова, 23, 220114, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: leonidtitov@tut.by

Хархаль Анна Николаевна – мл. науч. сотрудник. Республиканский научно-практический центр эпидемиологии и микробиологии (ул. Филимонова, 23, 220114, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: anna-madlen69@yandex.by

Барауля Валентина Геннадьевна – заведующий отделением. Минский городской центр гигиены и эпидемиологии (ул. П. Бровки, 13/1, 220013, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: aleftina90@mail.ru

Гусакова Юлия Владимировна – врач-бактериолог. Минский городской центр гигиены и эпидемиологии (ул. П. Бровки, 13/1, 220013, г. Минск, Республика Беларусь).

## Information about the authors

Alexander V. Davydov – Assistant. Belarusian State Medical University (83, Dzerzhinski Ave., 220116, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: alexander.davydovv@gmail.com

Leonid P. Titov – Corresponding Member, D. Sc. (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: leonidtitov@tut.by

Anna N. Kharkhal – Junior researcher. Republican Scientific and Practical Center for Epidemiology and Microbiology (23, Filimonov Str., 220114, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: anna-madlen69@yandex.by

Valentina G. Baraulya – Head of the Department. Minsk City Center for Hygiene and Epidemiology (13/1, Brovka Str., 220013, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: aleftina90@mail.ru

Yuliya V. Gusakova – Bacteriologist. Minsk City Center for Hygiene and Epidemiology (13/1, Brovka Str., 220013, Minsk, Republic of Belarus).

ISSN 1814-6023 (Print)

ISSN 2524-2350 (Online)

УДК 617.582-089.85-053.2:615.036

<https://doi.org/10.29235/1814-6023-2019-16-4-468-476>

Поступила в редакцию 06.09.2019

Received 06.09.2019

**Ю. В. Лихачевский, О. А. Соколовский**

*Республиканский научно-практический центр травматологии и ортопедии, Минск, Республика Беларусь*

## **СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА РЕЗУЛЬТАТОВ ЗАДНЕЙ РОТАЦИОННОЙ И ДЕТОРСИОННО-ВАРИЗИРУЮЩЕЙ ОСТЕОТОМИИ БЕДРА ПРИ II ТИПЕ ДЕФОРМАЦИИ ПО KALAMCHI У ДЕТЕЙ**

**Аннотация.** В статье оценена эффективность использования задней ротационной и деторсионно-варизирующей остеотомии бедра в лечении деформации II типа по Kalamchi у детей.

В основную группу вошли 26 детей (27 операций), которым была осуществлена задняя ротационная остеотомия бедренной кости по А. М. Соколовскому, в контрольную – 36 детей (39 операций), которым была выполнена деторсионно-варизирующая остеотомия бедра. Оценены рентгенологические критерии стабильности, центрации головки бедра в вертлужной впадине и конгруэнтности пораженных тазобедренных суставов. Рентгенологический контроль осуществляли через 3, 6, 12 мес. после операции, а затем 1 раз в год. Клинические результаты лечения оценивали по модифицированной шкале МакКау, рентгенологические – по модифицированной классификации E. Severin. Время послеоперационного наблюдения в основной группе составило в среднем 7 лет 8 мес., в контрольной – в среднем 6 лет 6 мес.

Рентгенологические результаты лечения во всех возрастных подгруппах были лучше в основной группе. Клинические результаты лечения в возрасте до 10 лет были лучше в основной группе, а в возрасте 10 лет и старше они были сопоставимы в обеих группах.

Установлено, что задняя ротационная остеотомия бедренной кости является операцией выбора в лечении деформации II типа по Kalamchi у детей.

**Ключевые слова:** задняя ротационная остеотомия бедра, деторсионно-варизирующая остеотомия бедра, деформация II типа по Kalamchi, проксимальный отдел бедренной кости, аваскулярный некроз

**Для цитирования:** Лихачевский, Ю. В. Сравнительная оценка результатов задней ротационной и деторсионно-варизирующей остеотомии бедра при II типе деформации по Kalamchi у детей / Ю. В. Лихачевский, О. А. Соколовский // Вес. Нац. акад. навук Беларусі. Сер. мед. навук. – 2019. – Т. 16, № 4. – С. 468–476. <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2019-16-4-468-476>

**Y. V. Likhachevski, A. A. Sakalouski**

*Republican Scientific-Practical Centre of Traumatology and Orthopedics, Minsk, Republic of Belarus*

## **COMPARATIVE EVALUATION OF THE RESULTS OF POSTERIOR ROTATIONAL OSTEOTOMY AND FEMORAL VARUS DEROTATION OSTEOTOMY AT THE II TYPE OF KALAMCHI DEFORMATION IN CHILDREN**

**Abstract.** The aim of the study was to evaluate the effectiveness of using posterior rotational and femoral varus derotation osteotomy in the treatment of Kalamchi type II deformities in children.

The main group (27 operations in 26 children) included those cases when the posterior rotational osteotomy of the femur was performed according to A.M. Sokolovsky. The control group (39 operations in 36 children) was represented by the cases when femoral varus derotation osteotomy was performed. We evaluated the radiological criteria for stability, centering of the femoral head in the acetabulum, and congruence of the affected hip joints. X-ray control was carried out 3, 6, 12 months after the operation, and then once a year. The clinical treatment results were evaluated on a modified McKay scale, the radiological ones – according to a modified Severin classification. Postoperative follow-up in the main group averaged 7 years 8 months, in the control group – on average 6 years 6 months.

The radiological treatment results in all age subgroups were better in the main group. The clinical treatment results at the age of 10 years were better in the main group, and at the age of 10 years and older, they were comparable in the both groups.

The posterior femoral rotational osteotomy is the surgery of choice in treating Kalamchi type II deformity in children.

**Keywords:** posterior rotational osteotomy of the femur, femoral varus derotation osteotomy, Kalamchi type II deformity, proximal femur, avascular necrosis

**For citation:** Likhachevski Y. V., Sakalouski A. A. Comparative evaluation of the results of posterior rotational osteotomy and femoral varus derotation osteotomy at the II type of Kalamchi deformation in children. *Vesti Natsyonal'nai akademii navuk Belarusi. Seriya meditsinskikh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2019, vol. 16, no. 4, pp. 468–476 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2019-16-4-468-476>

**Введение.** Аvascularный некроз (АН) головки и шейки бедренной кости является наиболее тяжелым осложнением и одной из главных причин неудовлетворительных результатов лечения врожденного вывиха бедра [1–3]. Одним из частых его последствий, которое имеет место в 25–61 % случаев, является формирование деформации проксимального отдела бедренной кости (ПОбК) II типа по Kalamchi [4, 5]. Окончательное становление деформации отстоит от момента АН на значительный временной промежуток, измеряемый годами, протекает автономно и в большинстве случаев уже при восстановившейся структуре головки бедренной кости (ГБК).

Достаточно часто формирование деформации сопровождается нарушением стабильности сустава, обусловленным как вальгусным отклонением головки бедра, так и вторичной дисплазией вертлужной впадины, децентрацией ГБК, инконгруэнтностью суставных поверхностей и проксимальной миграцией большого вертела. Возникающие отклонения ведут к развитию коксартроза, что требует выполнения реконструкции тазобедренного сустава.

Цель исследования – оценка эффективности использования задней ротационной и деторсионно-варизирующей остеотомии бедра в лечении деформаций II типа по Kalamchi у детей.

**Материалы и методы исследования.** В основу данной работы легли результаты обследования и лечения 62 детей (66 тазобедренных суставов) со II типом деформации ПОбК по Kalamchi. Всем пациентам в разные временные интервалы были выполнены оперативные вмешательства по поводу данной патологии в условиях травматолого-ортопедического отделения для детей ГУ РНПЦ травматологии и ортопедии и детского отделения 6-й городской клинической больницы г. Минска.

Основная группа (27 операций у 26 детей) включала случаи, когда производилась задняя ротационная остеотомия бедренной кости по А. М. Соколовскому; контрольная группа (39 операций у 36 детей) – случаи, когда выполнялась деторсионно-варизирующая остеотомия бедра. Поскольку у пациентов более младшего возраста отмечается наиболее бурное прогрессирование деформации, а затем ее темпы в связи с уменьшением потенциала зоны роста головки бедра снижаются, каждая группа была разделена на две подгруппы (А и Б). В подгруппу А были включены пациенты, которым оперативное лечение осуществлено до 10-летнего возраста, а в подгруппу Б – те, у кого возраст составил 10 лет и старше (табл. 1).

Таблица 1. Распределение пациентов по подгруппам

Table 1. Distribution of patients into the subgroups

Пол обследуемых	Основная группа		Контрольная группа		Итого
	Подгруппа А	Подгруппа Б	Подгруппа А	Подгруппа Б	
Мальчики	1	2	4	1	8
Девочки	4	19 (20 суставов)	12 (15 суставов)	19	54 (58 суставов)
Всего	5	21 (22 сустава)	16 (19 суставов)	20	62 (66 суставов)

Показанием к хирургическому лечению являлись наличие децентрации головки бедра с нарушением стабильности тазобедренного сустава, нарушение конгруэнтности суставных поверхностей за счет многоплоскостной деформации ПОбК при хорошем развитии вертлужной впадины.

Критериями включения в группы исследования были II тип деформации по Kalamchi, подлежащий хирургической коррекции; возможность оценить развитие тазобедренных суставов у пациента вплоть до окончания костного роста.

Критериями исключения из групп исследования были изменения ПОбК на фоне тератогенных, нейромышечных и других заболеваний; II тип деформации по Kalamchi при плохом развитии вертлужной впадины, что потребовало далее одномоментного выполнения хирургического вмешательства на костях таза.

Основная группа включала 27 тазобедренных суставов у 27 человек (23 (88,5 %) девочки, 3 (11,5 %) мальчика). На момент оперативного вмешательства медиана возраста составила 12 лет (данный показатель варьировался от 3 до 17 лет). У 15 пациентов поражение ПОбК было левосторонним, у 10 – правосторонним, у 1 пациентки патологический процесс был отмечен с двух сторон.

Контрольная группа включала 39 тазобедренных суставов у 36 человек (31 (86,1 %) девочка, 5 (13,9 %) мальчиков). Возраст, когда пациентам выполнялось оперативное лечение, колебался от 2 лет до 21 года (медиана – 10 лет). У 21 пациента операция выполнена на левом, у 12 – на правом тазобедренном суставе, у 3 детей – с двух сторон.

Проведенный статистический анализ показал, что в основной и контрольной группе пациенты подгрупп А и Б были сопоставимы по полу и возрасту ( $p > 0,05$ ).

Нами оценены рентгенологические критерии стабильности, центрации головки бедра в вертлужной впадине и конгруэнтности пораженных тазобедренных суставов. Рентгенологический контроль осуществляли через 3, 6, 12 мес. после операции, а затем 1 раз в год. Клинические результаты лечения оценивали по модифицированной шкале McKay [6], рентгенологические – по модифицированной классификации E. Severin [7]. Для статистического анализа полученных результатов применяли методы описательной статистики, используя программное обеспечение STATISTICA 10.0 (StatSoft Inc, USA), а также онлайн-калькулятор (сайт <http://www.medstatistic.ru>).

Время послеоперационного наблюдения в основной группе варьировалось от 3 до 24 лет (в среднем 7 лет 8 мес.), в контрольной – от 2 до 27 лет (в среднем 6 лет 6 мес.).

**Результаты и их обсуждение.** В ходе наблюдения было отмечено, что по мере роста пациента в среднем с 8-летнего возраста происходит прогрессивное ухудшение соотношений «впадина–головка» в суставе, нарушается его стабильность, возникает децентрация ГБК (98,5 % наблюдений), в 30,3 % случаев формируется инконгруэнтность суставных поверхностей, в 65,2 % случаев наблюдается многоплоскостная деформация ПОБК.

В первую очередь был проведен статистический анализ рентгенологических и клинических результатов лечения в пределах каждой группы в зависимости от возраста пациента при выполнении хирургического вмешательства. Хорошими результатами считались рентгенологический тип Severin 1 и Severin 2, плохими – Severin 3 и 4, что признано большинством современных исследователей [8].

Сопряженность рентгенологических результатов лечения в подгруппах А и Б основной группы представлена в табл. 2.

При анализе полученных данных статистически значимая связь между возрастом пациента, когда выполняется ЗРОБ, и итоговым рентгенологическим результатом лечения отсутствует (минимальное значение ожидаемого явления – 0,37, точный двусторонний критерий Фишера 1,00 000 при  $p > 0,05$ ).

Далее были оценены клинические результаты лечения пациентов в зависимости от возраста, когда им была выполнена задняя ротационная остеотомия бедра (ЗРОБ). Таблица сопряженности результатов лечения в подгруппах А и Б представлена в табл. 3. Статистически значимая связь между возрастом пациента, когда выполняется ЗРОБ, и итоговым клиническим результатом лечения отсутствует. Число степеней свободы – 2,  $\chi^2 = 4,881$ . Критическое значение  $\chi^2$  при уровне значимости  $p < 0,05$  составило 5,991. Связь между факторным (подгруппа А или Б) и результативным (клинический результат по шкале McKay) признаками статистически не значима,  $p > 0,05$  ( $p = 0,088$ ).

Таблица сопряженности рентгенологических результатов лечения в подгруппах А и Б контрольной группы представлена в табл. 4.

Таблица 2. Таблица сопряженности рентгенологических результатов лечения в подгруппах А и Б основной группы

Table 2. Contingency table of the radiological treatment results in subgroups A and B of the main group

Подгруппа	Хороший результат	Плохой результат	Итого
А	5	0	5
Б	20	2	22
Всего	25	2	27

Таблица 3. Таблица сопряженности клинических результатов лечения в подгруппах А и Б основной группы

Table 3. Contingency table of the clinical treatment results in subgroups A and B of the main group

Подгруппа	Отличный результат	Хороший результат	Удовлетворительный результат	Итого
А	4	1	0	5
Б	6	15	1	22
Всего	10	16	1	27

Статистически значимая связь между возрастом пациента, когда выполняется деторсионно-варизирующая остеотомия бедра (ДВОБ), и итоговым рентгенологическим результатом лечения отсутствует (минимальное значение ожидаемого явления в табл. 4 составило 8,28, критерий  $\chi^2$  с поправкой Йейтса равен 0,02 при  $p = 0,889$ ).

Далее оценены клинические результаты лечения пациентов в зависимости от возраста, когда была выполнена ДВОБ (табл. 5). Статистически значимая связь между возрастом пациента, когда выполняется ДВОБ, и итоговым клиническим результатом лечения отсутствует. Число степеней свободы – 3,  $\chi^2 = 3,332$ . Критическое значение  $\chi^2$  при  $p < 0,05$  составило 7,815. Связь между факторным (подгруппа А или Б) и результативным (клинический результат по шкале McKay) признаками статистически не значима,  $p > 0,05$  ( $p = 0,344$ ).

Таблица 4. Таблица сопряженности рентгенологических результатов лечения в подгруппах А и Б контрольной группы

Table 4. Contingency table of the radiological treatment results in subgroups A and B of the control group

Подгруппа	Хороший результат	Плохой результат	Итого
А	10	9	19
Б	12	8	20
Всего	22	17	39

Таблица 5. Таблица сопряженности клинических результатов лечения в подгруппах А и Б контрольной группы

Table 5. Contingency table of the clinical treatment results in subgroups A and B of the control group

Подгруппа	Отличный результат	Хороший результат	Удовлетворительный результат	Плохой результат	Итого
А	3	7	2	7	19
Б	2	11	4	3	20
Всего	5	18	6	10	39

Далее нами были оценены рентгенологические и клинические результаты лечения пациентов сравниваемых подгрупп в группах.

**Анализ результатов лечения в подгруппах А.** Максимально репрезентативным показателем развития и степени тяжести деформации II типа по Kalamchi является изменение шеечно-эпифизарного угла (ШЭУ) [9]. Показатели ШЭУ до хирургических вмешательств в подгруппах А исследуемых групп не отличались. После операции в основной группе ШЭУ в 100 % случаев уменьшился и был близок к норме (средние значения составили 34,5° до вмешательства и 6,6° к моменту последнего рентгенконтроля при возрастной норме 9°–20°). В контрольной группе это произошло только в 21,1 % случаев (средние значения составили 36,3° до и 47,8° после вмешательства), что статистически достоверно при  $p < 0,05$ ). Таким образом, у детей в возрасте до 10 лет ЗРОБ лучше восстанавливает ШЭУ, чем ДВОБ, а значит, является патогенетически обоснованным хирургическим вмешательством.

Артикуло-трохантерная дистанция (АТД) в подгруппе А основной группы до выполнения хирургического лечения в среднем составила 21,4 мм (колебалась от 13 до 29 мм), а в контрольной группе – 24,2 мм (варьировалась от 9 до 33 мм). Различия данного рентгенологического показателя в обеих группах статистически не значимы.

В основной группе в 100 % случаев АТД после выполнения ЗРОБ увеличилась и составила в среднем 33,4 мм (колебалась от 20 до 41 мм). ЗРОБ, таким образом, во всех случаях способствовала нормализации условий функционирования отводящих мышц бедра в пораженном тазобедренном суставе.

В контрольной группе усугубление высокого стояния большого вертела со вторичной слабостью аддукторов бедра после оперативного вмешательства имело место в 68,4 % случаев. Это отразилось на результатах последнего рентгенконтроля, при котором АТД составила в среднем 15,6 мм (варьировалась от –3 до +36 мм). Оперативное вмешательство также сопровождалось дополнительным укорочением бедренной кости, зона роста которой уже и так пострадала.

Различия в показателях АТД основной и контрольной групп статистически достоверны при  $p < 0,05$ . Таким образом, в возрасте до 10 лет ЗРОБ обеспечивает лучшее функционирование отводящих мышц бедра в пораженном тазобедренном суставе в послеоперационном периоде.

Центрация ГБК в подгруппах А основной и контрольной групп до хирургического вмешательства отсутствовала в 100 % случаев. В основной группе центрация интраоперационно была восстановлена в 100 % случаев и сохранилась при последнем рентгенконтроле в 100 % случаев

(тест  $\chi^2$  МакНемара составил 5,000, увеличение частоты признака статистически значимо при  $p = 0,026$ ). В контрольной группе после оперативного лечения центрация ГБК была восстановлена в 100 % случаев интраоперационно и сохранилась лишь в каждом третьем случае (36,8 %) ко времени заключительного рентгенконтроля (тест  $\chi^2$  МакНемара составил 7,000, увеличение частоты признака статистически значимо при  $p = 0,009$ ). Таким образом, улучшение центрации ГБК после выполнения оперативных вмешательств в обеих группах детей в возрасте до 10 лет было статистически достоверно.

Сохранение центрации после оперативного вмешательства в основной группе было более эффективным, чем в контрольной, что также статистически достоверно (минимальное значение ожидаемого явления – 2,50, точный двусторонний критерий Фишера – 0,01863 при  $p < 0,05$ ).

Таким образом, у детей в возрасте до 10 лет ЗРОБ по сравнению с ДВОБ обеспечивает сохранение центрации ГБК в 100 % случаев, ДВОБ – только у каждого третьего пациента (36,8 %).

Нами не выявлено статистически достоверного улучшения конгруэнтности суставных поверхностей после выполнения как ДВОБ, так и ЗРОБ у пациентов в возрасте до 10 лет. Конгруэнтность суставных поверхностей до хирургического лечения в подгруппах А имела место в 80 % случаев в основной группе и в 89,5 % случаев в контрольной. После операции при последнем рентгенконтроле в основной группе конгруэнтность суставов присутствовала в 100 % случаев (тест  $\chi^2$  МакНемара составил 1,000, увеличение частоты признака статистически не значимо при  $p = 0,318$ ), в контрольной группе – в 73,7 % случаев (тест  $\chi^2$  МакНемара составил 1,800, увеличение частоты признака статистически не значимо при  $p = 0,180$ ). По нашему мнению, недостаточно выраженное влияние оперативных вмешательств на конгруэнтность суставных поверхностей тазобедренного сустава связано с отсутствием значительных ее нарушений в данном возрастном периоде.

Итоговая конгруэнтность прооперированных суставов статистически не отличалась в основной и контрольной группах (минимальное значение ожидаемого явления – 1,04, точный двусторонний критерий Фишера составил 0,54404 при  $p > 0,05$ ). При этом связь результата с видом оперативного вмешательства оценивается как средняя. Предполагается, что дальнейшие исследования с увеличением численности выборок помогут выявить определенную корреляцию между видом операции и эффективностью коррекции инконгруэнтности суставных поверхностей.

*Рентгенологические результаты лечения по Severin в подгруппе А* основной группы составили 80 % отличных и 20 % хороших исходов, в контрольной группе – 15,7 % отличных, 36,9 % хороших, 10,5 % удовлетворительных и 36,9 % плохих исходов.

Анализ таблиц сопряженности с применением критерия  $\chi^2$  Пирсона выявил лучшие результаты в основной группе по сравнению с контрольной (число степеней свободы – 3, значение критерия  $\chi^2$  составило 8,301). Критическое значение  $\chi^2$  при  $p = 0,05$  равно 7,815, а значит, связь между факторным и результативным признаками статистически значима при  $p < 0,05$  ( $p = 0,041$ ). Таким образом, у детей в возрасте до 10 лет рентгенологические исходы лечения по Severin в группе ЗРОБ были лучше, чем в группе ДВОБ.

*Клинические исходы лечения по McКау в подгруппе А* в основной группе составили 80 % отличных и 20 % хороших результатов, в контрольной группе – 21 % отличных, 36,9 % хороших, 10,5 % удовлетворительных и 31,6 % плохих исходов.

Анализ таблиц сопряженности с использованием критерия  $\chi^2$  Пирсона выявил лучшие результаты в основной группе по сравнению с контрольной (число степеней свободы – 3, значение критерия  $\chi^2$  равно 12,632). Критическое значение  $\chi^2$  при  $p = 0,01$  составило 11,345, а значит, связь между факторным и результативным признаками статистически значима при  $p < 0,01$  ( $p = 0,006$ ). Таким образом, у детей в возрасте до 10 лет клинические исходы лечения по McКау в группе ЗРОБ были лучше, чем в группе ДВОБ.

*Анализ результатов лечения в подгруппах Б.* ШЭУ до хирургических вмешательств статистически не отличался в исследуемых группах, однако после операции в основной группе ШЭУ в 95,5 % случаев уменьшился (средние значения составили 54,3° до вмешательства и 26,1° к моменту последнего рентгенконтроля при возрастной норме 13–27°). В контрольной группе это произошло только в 20 % случаев (средние значения составили 55,6° до и 57,6° после вмешательства),

что статистически достоверно при  $p < 0,05$ . Таким образом, у детей в возрасте 10 лет и старше ЗРОБ лучше восстанавливает ШЭУ, чем ДВОБ, а значит, является патогенетически обоснованным хирургическим вмешательством.

АТД до хирургического лечения в основной группе составила в среднем 8,1 мм (варьировалась от –8 до +32 мм). В контрольной группе этот рентгенологический показатель в среднем составил 18,2 мм (колебался от 5 до 34 мм). Таким образом, АТД перед операцией была меньше в основной группе, что статистически достоверно при  $p < 0,05$ . После выполнения хирургических вмешательств АТД в основной группе составила в среднем 21,7 мм (от 9 до 39 мм), а в контрольной – 13,9 мм (от –2 до +32 мм), что статистически достоверно при  $p < 0,05$ . Таким образом, у детей в возрасте 10 лет и старше ЗРОБ оказывает положительное влияние на положение большого вертела и обеспечивает лучшее функционирование отводящих мышц бедра в пораженном тазобедренном суставе в послеоперационном периоде.

Центрация ГБК после выполнения оперативных вмешательств у пациентов в возрасте 10 лет и старше в обеих группах статистически достоверно улучшилась. Центрация ГБК в подгруппе Б изначально присутствовала в 4,5 % случаев в основной группе, была восстановлена в 81,8 % случаев интраоперационно, и тот же результат сохранился ко времени заключительного рентгенконтроля. Увеличение частоты признака статистически значимо (тест  $\chi^2$  МакНемара составил 17,000 при  $p = 0,001$ ). В контрольной группе центрация ГБК до вмешательства отсутствовала в 100 % случаев, была восстановлена во всех тазобедренных суставах интраоперационно, но сохранилась только в каждом третьем случае (30 %) при последнем рентгенконтроле. Тем не менее, увеличение частоты признака также статистически значимо (тест  $\chi^2$  МакНемара составил 6,000 при  $p = 0,009$ ).

Улучшение центрации в основной группе было более эффективным, чем в контрольной, что также статистически достоверно (минимальное значение ожидаемого явления – 8,57, критерий  $\chi^2$  с поправкой Йейтса составил 9,468,  $p = 0,003$ ). Таким образом, ЗРОБ лучше центрирует ГБК у детей в возрасте 10 лет и старше, обеспечивая сохранение долгосрочного результата по сравнению с ДВОБ.

Улучшение конгруэнтности суставных поверхностей при выполнении хирургического вмешательства у детей в возрасте 10 лет и старше произошло только в основной группе. В подгруппе Б данный рентгенологический показатель в основной группе увеличился от 50 % случаев до хирургического лечения до 86,4 % при последнем рентгенконтроле (тест  $\chi^2$  МакНемара составил 7,364, а значит, увеличение частоты признака статистически значимо при  $p = 0,007$ ). В контрольной подгруппе конгруэнтность суставных поверхностей составила 65 % случаев до и 50 % случаев после вмешательства при заключительном рентгенконтроле (тест  $\chi^2$  МакНемара равен 3,000, а значит, изменение частоты признака статистически не значимо при  $p = 0,084$ ). Таким образом, в возрасте 10 лет и старше улучшение конгруэнтности суставных поверхностей происходит только после выполнения ЗРОБ.

Итоговая послеоперационная конгруэнтность суставных поверхностей у пациентов 10 лет и старше при заключительном осмотре также была статистически лучше в основной группе (минимальное значение ожидаемого явления – 6,197, критерий  $\chi^2$  с поправкой Йейтса – 4,892 при  $p = 0,027$ ). Таким образом, при уже сформировавшейся многоплоскостной деформации ПОБК выведение максимально сферического сектора головки под нагрузку позволяет достичь при ЗРОБ лучшей конгруэнтности суставных поверхностей у детей в возрасте 10 лет и старше, чем при ДВОБ.

*Рентгенологические результаты лечения по Severin в подгруппе Б* в основной группе составили 18,2 % отличных, 72,7 % хороших и 9,1 % удовлетворительных исходов. В контрольной группе отличных результатов не выявлено. Хорошие исходы отмечены в 60 % случаев, удовлетворительные – в 10 %, плохие – в 30 %.

Статистический анализ выявил лучшие результаты хирургического лечения в основной группе по сравнению с контрольной при  $p = 0,015$  (число степеней свободы в таблице сопряженности равно 3, значение критерия  $\chi^2$  Пирсона – 10,500; критическое значение  $\chi^2$  при  $p = 0,05$

составляет 7,815). Таким образом, рентгенологические исходы лечения по Severin у детей в возрасте 10 лет и старше были лучше в группе ЗРОБ по сравнению с группой ДВОБ.

*Клинические результаты лечения по McKay в подгруппе Б* в основной группе составили 27,3 % отличных, 68,2 % хороших и 4,5 % удовлетворительных исходов. В контрольной группе было соответственно 5 % отличных, 55 % хороших, 20 % удовлетворительных и 20 % плохих исходов.

Статистический анализ не выявил различий в результатах пациентов основной и контрольной групп (число степеней свободы в таблице сопряженности равно 3, значение критерия  $\chi^2$  составило 6,932 при критическом значении 7,815 при  $p < 0,05$ ). Связь между факторным и результативным признаками была статистически не значима при  $p = 0,075$ . Таким образом, у детей в возрасте 10 лет и старше клинические исходы лечения по McKay были одинаковыми в группах ЗРОБ и ДВОБ.

В подгруппах А и Б рассматриваемых групп ряд рентгенологических показателей статистически не изменился до и после выполненных хирургических вмешательств. К ним относятся угол Виберга, степень костного покрытия (СКП) и шейчно-диафизарный угол (ШДУ).

В контрольной группе ко времени завершения роста показатели угла Виберга, достигнутые в ходе вмешательства, сохранились в 51,3 % случаев. В основной группе угол Виберга увеличился в 51,9 % случаев либо остался в пределах возрастной нормы (48,1 %). В подгруппе А данный рентгенологический показатель до операции составлял в среднем 16,4° (от 9° до 24°) в основной группе и 18,1° (от 0° до 35°) в контрольной группе. После вмешательства угол Виберга в среднем был равен 25,2° (от 22° до 27°) в основной группе и 21,4° (от 0° до 36°) в контрольной группе. В подгруппе Б данный рентгенологический показатель до операции составлял в среднем 27,6° (от 10° до 40°) в основной группе и 25,6° (от 10° до 44°) в контрольной группе. После вмешательства угол Виберга в среднем был равен 27,9° (от 15° до 36°) в основной группе и 28,3° (от 13° до 43°) в контрольной группе. Однако данные различия в подгруппах А и Б не являются статистически достоверными.

В контрольной группе в 51,3 % случаев СКП ГБК, несмотря на хирургическое лечение, продолжала уменьшаться по мере роста пациентов, а при достижении костной зрелости даже уменьшилась по сравнению с предоперационными цифрами в среднем с 0,79 до 0,74. В основной группе СКП головки бедра уменьшилась в 25,9 % случаев. В подгруппе А данный рентгенологический показатель до операции составлял в среднем 0,74 (от 0,65 до 0,86) в основной группе и 0,74 (от 0,46 до 0,87) в контрольной группе. После вмешательства СКП в среднем была равна 0,8 (от 0,78 до 0,82) в основной группе и 0,75 (от 0,5 до 0,92) в контрольной группе. В подгруппе Б данный рентгенологический показатель до операции составлял в среднем 0,78 (от 0,57 до 0,88) в основной группе и 0,78 (от 0,61 до 0,91) в контрольной группе. После вмешательства СКП была равна в среднем 0,82 (от 0,68 до 1) в основной группе и 0,8 (от 0,64 до 0,98) в контрольной группе. Однако в подгруппах А и Б эти различия также были статистически недостоверны.

В контрольной группе в 34 (87,2 %) случаях постепенное латеральное смещение головки бедра не отразилось на изменении ШДУ в плане увеличения вальгуса ПОВК. ШДУ у этих пациентов был уменьшен в результате вмешательства в среднем со 142,9 до 126,7° и остался таким же к завершению роста. В основной группе во всех случаях ШДУ был нормализован, увеличивался при *coxa vara* и уменьшался при *coxa valga*. В подгруппе А данный рентгенологический показатель до операции составил в среднем 135,6° (от 116 до 158°) в основной группе и 142,2° (от 118 до 161°) в контрольной группе. После вмешательства ШДУ был равен в среднем 132,6° (от 121 до 143°) в основной группе и 128,1° (от 102 до 152°) в контрольной группе. В подгруппе Б данный рентгенологический показатель до операции составил в среднем 132,1° (от 99 до 159°) в основной группе и 140,4° (от 110 до 160°) в контрольной группе. После вмешательства показатель ШДУ был равен в среднем 127° (от 110 до 146°) в основной группе и 127,8° (от 100° до 152°) в контрольной группе. Однако в подгруппах А и Б статистически значимые различия в основной и контрольной группе отсутствовали.

В подгруппах А основной и контрольной групп значения угла Шарпа статистически не отличались до и после оперативных вмешательств. В подгруппах Б его значения статистически досто-

верно отличались ( $p < 0,05$ ) до хирургических вмешательств, составляя в среднем  $41,9^\circ$  в группе ЗРОБ и  $43,8^\circ$  в группе ДВОБ. Однако разбежку в  $2^\circ$  можно объяснить погрешностью выполненных измерений. После выполнения операций значения этого показателя статистически не отличались в обеих группах.

Таким образом, в основной и контрольной группах отсутствовали статистически значимые различия в динамике изменений угла Виберга, ШДУ, СКП и угла Шарпа до оперативного вмешательства и при заключительном рентгенконтроле.

**Заключение.** Установлено, что ЗРОБ обеспечивает перемещение ростковой пластинки пораженной головки бедренной кости в положение, при котором происходит минимизация ее неправильной функции. В результате при выполнении ЗРОБ лучше восстанавливаются центрация головки бедра во впадине, конгруэнтность суставных поверхностей и АДД по сравнению с ДВОБ, а полученные результаты сохраняются до окончания костного роста. В то же время ЗРОБ полностью сопоставима по результатам достижения показателей стабильности тазобедренного сустава с ДВОБ.

Таким образом, ЗРОБ является операцией выбора при деформации II типа по Kalamchi у детей, которая позволяет в возрасте до 10 лет кардинально влиять на течение патологического процесса, не допуская тяжелых анатомических изменений в тазобедренном суставе, а после 10-летнего возраста – максимально устранить уже имеющиеся структурные нарушения.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

#### Список использованных источников

1. Причины формирования многоплоскостных деформаций проксимального отдела бедренной кости в ходе лечения дисплазии тазобедренного сустава у детей / В. А. Винокуров [и др.] // Актуальные вопросы детской травматологии и ортопедии : материалы науч.-практ. конф. дет. травматологов-ортопедов России. – СПб., 2004. – С. 218.
2. Малахов, О. А. Сравнительный анализ отдаленных результатов лечения дисплазии тазобедренных суставов / О. А. Малахов, Е. Е. Цыганкова // Актуальные вопросы детской травматологии и ортопедии : материалы науч.-практ. конф. дет. травматологов-ортопедов России. – СПб., 2005. – С. 229–230.
3. Keret, D. Growth disturbance of the proximal part of the femur after treatment for congenital dislocation of the hip / D. Keret, G. D. MacEwen // J. Bone Joint Surg. – 1991. – Vol. 73, N 3. – P. 410–423. <https://doi.org/10.2106/00004623-199173030-00012>
4. Acetabular development in developmental dysplasia of the hip complicated by lateral growth disturbance of the capital femoral epiphysis / H. Kim [et al.] // J. Bone Joint Surg. (Am. Vol.). – 2000. – Vol. 82, N 12. – P. 1692–1700. <https://doi.org/10.2106/00004623-200012000-00002>
5. Operative treatment for type II avascular necrosis in developmental dysplasia of the hip / C. W. Oh [et al.] // Clin. Orthop. Relat. Res. – 2005. – Vol. 434. – P. 86–91. <https://doi.org/10.1097/01.blo.0000163243.00357.1d>
6. Barrett, W. P. The effectiveness of the Salter innominate osteotomy in the treatment of congenital dislocation of the hip / W. P. Barrett, L. T. Staheli, D. E. Chew // J. Bone Joint Surg. – 1986. – Vol. 68, N 1. – P. 79–87. <https://doi.org/10.2106/00004623-198668010-00010>
7. Severin, E. Contribution to the knowledge of congenital dislocation of the hip joint. Late results of closed reduction and arthrographic studies of recent cases / E. Severin // Acta Chir. Scandinavica. – 1941. – Vol. 84, suppl. 63. – P. 1–142.
8. Acetabular remodeling and role of osteotomy after closed reduction of developmental dysplasia of the hip / C. H. Shin [et al.] // J. Bone Joint Surg. – 2016. – Vol. 98, N 11. – P. 952–957. <https://doi.org/10.2106/jbjs.15.00992>
9. Лихачевский, Ю. В. Результаты задней ротационной остеотомии бедра при II типе деформации по Kalamchi у детей школьного возраста / Ю. В. Лихачевский, О. А. Соколовский // Мед. новости. – 2018. – № 3. – С. 77–82.

#### References

1. Vinokurov V. A., Bakhteeva N. Kh., Biryukova L. I., Saidov R. M. Causes of the formation of multiplanar deformities of the proximal femur during treatment of hip dysplasia in children. *Aktual'nye voprosy detskoi travmatologii i ortopedii: materialy nauchno-prakticheskoi konferentsii detskikh travmatologov-ortopedov Rossii* [Actual issues of pediatric traumatology and orthopedics: materials of the scientific-practical conference of children's traumatologists-orthopedists of Russia]. St. Petersburg, 2004, p. 218 (in Russian).
2. Malakhov O. A., Tsygankova E. E. Comparative analysis of the long-term results of the treatment of hip dysplasia. *Aktual'nye voprosy detskoi travmatologii i ortopedii: materialy nauchno-prakticheskoi konferentsii detskikh travmatologov-ortopedov Rossii* [Actual issues of pediatric traumatology and orthopedics: materials of the scientific-practical conference of children's traumatologists-orthopedists of Russia]. St. Petersburg, 2005, pp. 229–230 (in Russian).
3. Keret D., MacEwen G. D. Growth disturbance of the proximal part of the femur after treatment for congenital dislocation of the hip. *Journal of Bone and Joint Surgery*, 1991, vol. 73, no. 3, pp. 410–423. <https://doi.org/10.2106/00004623-199173030-00012>

4. Kim H. W., Morcuende J. A., Dolan L. A., Weinstein S. L. Acetabular development in developmental dysplasia of the hip complicated by lateral growth disturbance of the capital femoral epiphysis. *Journal of Bone and Joint Surgery (American Volume)*, 2000, vol. 82, no. 12, pp. 1692–1700. <https://doi.org/10.2106/00004623-200012000-00002>

5. Oh C. W., Guille J. T., Kumar S. J., Lipton G. E., MacEwen G. D. Operative treatment for type II avascular necrosis in developmental dysplasia of the hip. *Clinical Orthopaedics and Related Research*, 2005, vol. 434, pp. 86–91. <https://doi.org/10.1097/01.blo.0000163243.00357.1d>

6. Barrett W. P., Staheli L. T., Chew D. E. The effectiveness of the Salter innominate osteotomy in the treatment of congenital dislocation of the hip. *Journal of Bone and Joint Surgery*, 1986, vol. 68, N 1, pp. 79–87. <https://doi.org/10.2106/00004623-198668010-00010>

7. Severin E. Contribution to the knowledge of congenital dislocation of the hip joint. Late results of closed reduction and arthrographic studies of recent cases. *Acta chirurgica Scandinavica*, 1941, vol. 84, suppl. 63, pp. 1–142.

8. Shin C. H., Yoo W. J., Park M. S., Kim J. H., Choi I. H., Cho T. J. Acetabular remodeling and role of osteotomy after closed reduction of developmental dysplasia of the hip. *Journal of Bone and Joint Surgery*, 2016, vol. 98, no. 11, pp. 952–957. <https://doi.org/10.2106/jbjs.15.00992>

9. Likhachevskii Yu. V., Sokolovskii O. A. Results of posterior femoral rotational osteotomy for type II Kalamchi deformity in school children. *Meditsinskie novosti* [Medical news], 2018, no. 3, pp. 77–82 (in Russian).

### Информация об авторах

*Лихачевский Юрий Валентинович* – врач-травматолог. Республиканский научно-практический центр травматологии и ортопедии (ул. Кизhevатова, 60/4, 220024, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: gradivus@rambler.ru

*Соколовский Олег Анатольевич* – д-р мед. наук, профессор, заведующий лабораторией. Республиканский научно-практический центр травматологии и ортопедии (ул. Кизhevатова, 60/4, 220024, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: sakalouski@yandex.ru

### Information about the authors

*Yuri V. Likhacheuski* – Traumatologist. Republican Scientific-Practical Center of Traumatology and Orthopedics (60/4, Kizhevato Str., 220024, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: gradivus@rambler.ru

*Aleh A. Sakalouski* – D. Sc. (Med.), Professor, Head of the Laboratory. Republican Scientific-Practical Center of Traumatology and Orthopedics (60/4, Kizhevato Str., 220024, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: sakalouski@yandex.ru

ISSN 1814-6023 (Print)  
ISSN 2524-2350 (Online)  
УДК 617.713-007.17-085  
<https://doi.org/10.29235/1814-6023-2019-16-4-477-487>

Поступила в редакцию 28.06.2019  
Received 28.06.2019

**Г. Р. Семак, В. А. Захарова, С. К. Клецкий, Т. А. Летковская, И. Ю. Жерко**

*Белорусский государственный медицинский университет, Минск, Республика Беларусь*

## **ОСОБЕННОСТИ ЭКСПРЕССИИ БИОМОЛЕКУЛЯРНЫХ МАРКЕРОВ (CD44, MMP9, TGFβ1) В ОЦЕНКЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ ЛЕЧЕНИЯ ЭНДОТЕЛИАЛЬНО-ЭПИТЕЛИАЛЬНОЙ ДИСТРОФИИ РОГОВИЦЫ**

**Аннотация.** Цель работы – определить эффективность терапии эндотелиально-эпителиальной дистрофии с применением субконъюнктивального введения низкомолекулярной гиалуроновой кислоты путем комплексного анализа характера экспрессии биомолекулярных маркеров в материале эксплантов роговицы.

Изучен проспективный материал эксплантов роговиц 14 пациентов с приобретенными и врожденными формами эндотелиально-эпителиальной дистрофии (ЭЭД) роговицы. С целью анализа характера экспрессии биомолекулярных маркеров выполнено ИГХ-исследование с использованием первичных моноклональных антител к CD44, MMP9, TGFβ1. Для изучения морфологических особенностей кератопатий на фоне глаукомы были использованы окрашивания гистологических препаратов гематоксилином и эозином; гистохимическое окрашивание (PAS-реакция, MSB, по Массону, конго-красным; ИГХМ с использованием маркеров CD44, MMP9, TGFβ1).

Согласно полученным результатам, в группе пациентов с ЭЭД на фоне применения инъекционной формы гиалуроновой кислоты снижается активность воспаления за счет снижения эпителиальной и стромальной экспрессии CD44 и MMP9, уменьшается проапоптотическое и профибротическое действие TGFβ1.

**Ключевые слова:** гиалуроновая кислота, регенерация, дистрофия роговицы, иммуногистохимия, эндотелиально-эпителиальная дистрофия

**Для цитирования:** Особенности экспрессии биомолекулярных маркеров (CD44, MMP9, TGFβ1) в оценке эффективности лечения эндотелиально-эпителиальной дистрофии роговицы / Г. Р. Семак [и др.] // Вест. Нац. акад. наук Беларуси. Сер. мед. наук. – 2019. – Т. 16, № 4. – С. 477–487. <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2019-16-4-477-487>

**G. R. Semak, V. A. Zakharova, S. K. Kletsy, T. A. Letkovskaya, I. Yu. Zherko**

*Belarusian State Medical University, Minsk, Republic of Belarus*

## **FEATURES OF THE EXPRESSION OF BIOMOLECULAR MARKERS (CD44, MMP9, TGFβ1) IN ASSESSING THE EFFECTIVENESS OF TREATMENT OF ENDOTHELIAL-EPITHELIAL CORNEAL DYSTROPHY**

**Abstract.** The purpose was to determine the effectiveness of endothelial-epithelial dystrophy treatment with subconjunctival injection of low molecular weight hyaluronic acid.

Prospective material of 14 corneas with different epithelial- epithelial dystrophy forms were examined and treated. To study the morphological features of keratopathy with the background of glaucoma staining of histological preparations with hematoxylin and eosin; histochemical staining (PAS reaction, MSB, Masson, Congo red; IHC with CD44, MMP9, TGFβ1) were used.

According to the results obtained, in the group of patients with EED, with the background of the use of an injectable form of hyaluronic acid, the activity of inflammation decreases due to a decrease in the epithelial and stromal expression of CD44 and MMP9. The proapoptotic and profibrotic action of TGFβ1 decreases.

**Keywords:** hyaluronic acid, dry eye disease, regeneration, corneal dystrophy, immunohistochemistry, endothelial-epithelial dystrophy

**For citation:** Semak G. R., Zakharova V. A., Kletsy S. K., Letkovskaya T. A., Zherko I. Yu. Features of the expression of biomolecular markers (CD44, MMP9, TGFβ1) in assessing the effectiveness of treatment of endothelial-epithelial corneal dystrophy. *Vesti Natsyonal'noi akademii nauk Belarusi. Seriya meditsinskikh nauk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2019, vol. 16, no. 4, pp. 477–487 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2019-16-4-477-487>

**Введение.** Эндотелиально-эпителиальная дистрофия (ЭЭД) роговицы – медленно прогрессирующее хроническое заболевание, которое трудно поддается лечению [1, 2]. Причиной развития ЭЭД роговицы могут быть первичные наследственно детерминированные поражения эндотелия роговицы или вторичные – после различных оперативных вмешательств, проникающих ранений глазного яблока и воспалительных процессов роговой оболочки [3].

Цель работы – определить эффективность терапии эндотелиально-эпителиальной дистрофии с применением субконъюнктивального введения низкомолекулярной гиалуроновой кислоты путем комплексного анализа характера экспрессии биомолекулярных маркеров в материале эксплантов роговиц.

**Материалы и методы исследования.** Исследование выполнено на базе кафедр офтальмологии и патологической анатомии УО «Белорусский государственный медицинский университет». Изучен проспективный материал эксплантов роговиц 14 пациентов с приобретенными и врожденными формами ЭЭД роговицы, обратившихся в 2017–2018 гг. для обследования и последующего лечения в УЗ «3-я городская клиническая больница им. Е. В. Клумова».

Материалом исследования служили экспланты роговиц пациентов с ЭЭД, которые были разделены на группу исследования и группу сравнения. Терапия пациентов включала дополнительное применение гиалуроновой кислоты (ГК) и использование стандартных протоколов соответственно (табл. 1). Перед началом обследования и лечения все пациенты подписали информированное согласие о включении в исследование.

Таблица 1. Структура материала для анализа морфологических и иммуногистохимических признаков дисков роговиц пациентов с ЭЭД

Table 1. The material structure for the analysis of morphological and immunohistochemical signs of the corneal disc of patients with endothelial-epithelial dystrophy

Нозологическая форма	Число случаев	Число полей зрения (×40)
Группа контроля	3	18
Эндотелиально-эпителиальная дистрофия (ГК+)	6	36
Эндотелиально-эпителиальная дистрофия (ГК-)	5	30
Всего	14	84

Пациенты исследуемых групп были сопоставимы по основным клинико-лабораторным и морфологическим показателям.

Критерием включения в исследование явилась неэффективность инстилляционной терапии болезни сухого глаза (БСГ); критериями исключения – наличие глаукомы или офтальмогипертензии, наличие острого воспалительного процесса переднего отрезка глазного яблока. Клинико-лабораторное обследование включало визометрию, биомикроскопию, тонометрию, тест Ширмера I, LIPCOF-тест, определение времени разрыва слезной пленки, оптическую когерентную томографию переднего отрезка глазного яблока.

В рамках морфологического исследования дисков роговиц пациентов с ЭЭД для оценки эффективности проводимой терапии были использованы следующие модификации морфологического метода:

- 1) окрашивание гистологических препаратов гематоксилином и эозином;
- 2) гистохимическое окрашивание: PAS-реакция (окрашивание реактивом Шиффа), MSB, по Массону, конго-красным.
- 3) иммуногистохимический (ИГХ) метод.

С целью анализа характера экспрессии биомолекулярных маркеров выполнено ИГХ-исследование с использованием первичных моноклональных антител к CD44, MMP9, TGFβ1. В качестве визуализирующей системы использовали комплекс вторичных антител EnVision фирмы DAKO, в качестве хромогена – диаминобензидин. Позитивный контроль – ткани и органы, рекомендованные производителем, негативный – исключение первичного антитела. Характер экспрессии ИГХ-маркеров представлен в табл. 2.

Для морфометрического исследования микропрепараты фотографировали в 6 полях зрения (×40) с разрешением 2048×1536 пикселей при помощи микроскопа Leica с цифровой камерой Levenhuk C-Series.

ИГХ-реакцию с CD44, MMP9, TGFβ1 в материале оценивали отдельно в эпителии, кератоцитах и эндотелии роговицы, используя программное обеспечение для морфометрии WCIF ImageJ и Aperio Image Scope v.8.0.39.1059.

Таблица 2. Характер экспрессии основных иммуногистохимических маркеров

Table 2. The expression pattern of the main immunohistochemical markers

ИГХ-маркер	Характер экспрессии
CD44	Гомогенное окрашивание мембран и/или цитоплазмы эпителиальных клеток (преимущественно базальных слоев) и/или стромальных клеток в коричневый цвет различной интенсивности (от светло- до темно-коричневого)
MMP9	Цитоплазматическое окрашивание эпителия роговицы, лейкоцитов, стромальных клеток в коричневый цвет различной интенсивности
TGFβ1	Гомогенное окрашивание ядер и/или цитоплазмы эпителиальных клеток (преимущественно базальных слоев) и/или кератоцитов и/или эндотелия в коричневый цвет различной интенсивности

Статистический анализ данных проводили с помощью программного обеспечения STATISTICA 10.0. Полученные результаты обрабатывали статистически с вычислением медианы (Me), межквартильного размаха (МКР – 25-го и 75-го процентилей) и 95 %-ного доверительного интервала (ДИ) (его максимального и минимального значений).

Для оценки характера распределения полученных данных использовали критерий Шапиро–Уилка ( $W$ ). Статистически значимыми считали различия при  $p < 0,05$ . Сравнение независимых выборок по количественным признакам проводили с помощью дисперсионного анализа непараметрических данных ANOVA и определения критериев Краскела–Уоллиса ( $H$ -критерий) для трех и более выборок и Манна–Уитни ( $U$ -критерий) с целью парного их сравнения.

**Результаты и их обсуждение.** В клинических исследованиях нами была доказана эффективность субконъюнктивального введения низкомолекулярного натрия гиалуроната [4, 5]. Установлено, что гиалуроновая кислота молекулярной массой 500–700 кДа положительно влияет на течение как БСГ, так и самой кератопатии. Увеличивается слезопродукция, повышается стабильность слезной пленки, уменьшается толщина роговицы, разрешаются помутнения, уменьшается количество конъюнктивальных сосудов (рис. 1, 2).

**Анализ экспрессии CD44.** CD44 является наиболее распространенным рецептором гиалуроновой кислоты. Его внутрицитоплазматический домен способен транслоцироваться в ядро и самостоятельно модулировать функции клеток. CD44 также является молекулой клеточной адгезии, экспрессия которой увеличивается при воспалении [6–8].

Экспрессия CD44 выявлялась в ткани роговицы во всех исследованных случаях, имела мембранный паттерн с преобладанием слабой и умеренной экспрессии в базальном и парабазальном слоях эпителия и очагово – в кератоцитах под Боуеновой мембраной и в эндотелии сосудов в очагах неоваскуляризации.

Экспланты роговиц в группе контроля характеризовались негативным окрашиванием или базальной слабо выраженной экспрессией CD44 в эпителии роговицы и негативным окрашиванием в кератоцитах и эндотелии.

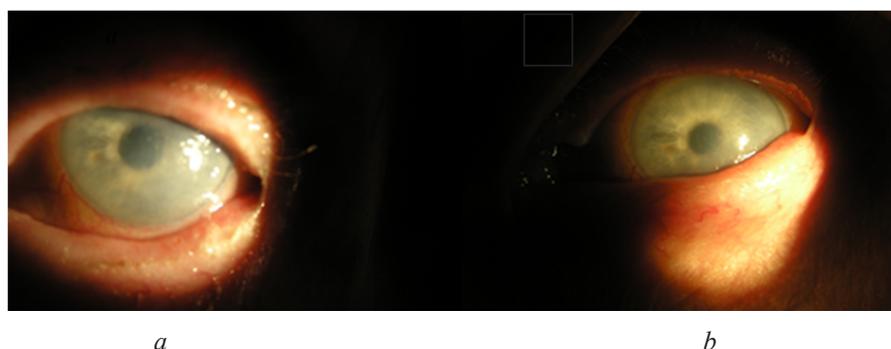


Рис. 1. Биомикроскопия переднего отрезка глазного яблока до (а) и после (б) терапии с применением гиалуроновой кислоты

Fig. 1. Biomicroscopy of the anterior segment of the eyeball before (a) and after (b) therapy with hyaluronic acid

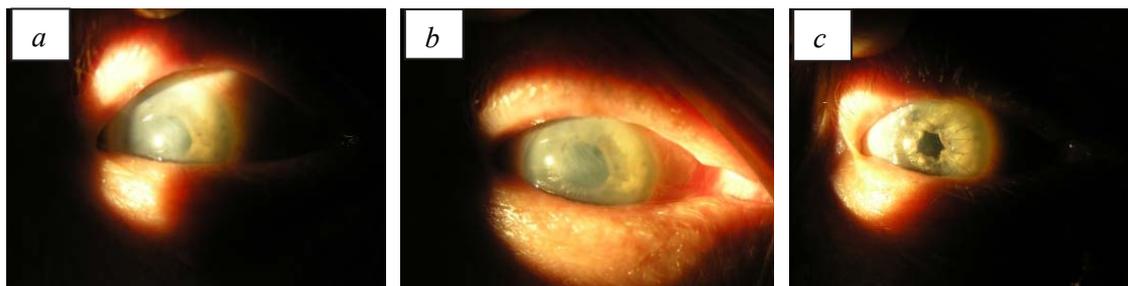
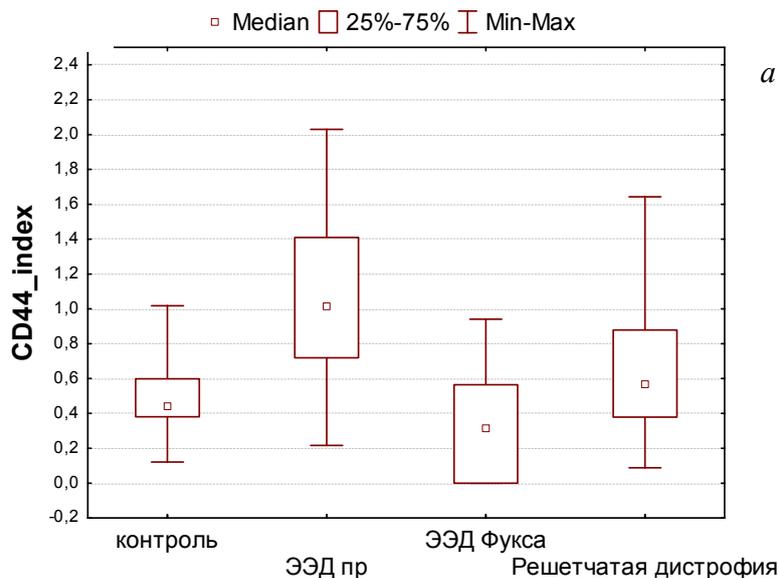


Рис. 2. Биомикроскопия переднего отрезка глазного яблока до (a), после (b) консервативного лечения и на 3-и сутки после оперативного вмешательства (c)

Fig. 2. Biomicroscopy of the anterior segment of the eyeball before (a), after (b) conservative treatment and on the 3rd day after surgery (c)

В группе пациентов с ЭЭД слабо выраженное базальное окрашивание эпителия и очаговое – кератоцитов наблюдалось в группах пациентов с врожденными формами ЭЭД (дистрофия Фукса и решетчатая дистрофия роговицы), а значительно более выраженная экспрессия CD44 как по интенсивности, так и количеству позитивных слоев отмечалась в группе пациентов с приобретенными формами ЭЭД.

Полученные данные подтверждаются результатами проведенного дисперсионного анализа, согласно которому в ткани роговиц при различных формах ЭЭД имеет место значимо большая экспрессия CD44, чем в группе контроля ( $U = 4,65; p = 0,03$ ), преимущественно за счет приобретенных форм ЭЭД ( $H = 33,94; p < 0,001$ ). Анализ характера экспрессии CD44 в материале роговиц



Me [МКР]	Контроль	ЭЭД приобр.	ЭЭД Фукса	Решетчатая дистрофия
		0,44 [0,38–0,60]	1,01 [0,72–1,41]	0,31 [0,0–0,56]
Контроль		$p < 0,001^*$	$p = 0,28$	$p = 0,14$
ЭЭД приобр.			$p < 0,001^*$	$p = 0,003^*$
ЭЭД Фукса				$p = 0,008^*$

$H = 33,94; p = 0,000^*$

Рис. 3. Дисперсионный анализ экспрессии CD44 в эпителии эксплантов роговиц пациентов с различными нозологическими формами ЭЭД (a – критерий Краскела–Уоллиса, b – критерий Манна–Уитни). \* – различия достоверны при  $p < 0,05$

Fig. 3. Dispersion analysis of CD44 expression in the epithelium of the corneal explants of patients with various nosological forms of endothelial-epithelial dystrophy (a – Kruskel–Wallis test, b – Mann–Whitney test). \* – differences are significant at  $p < 0.05$

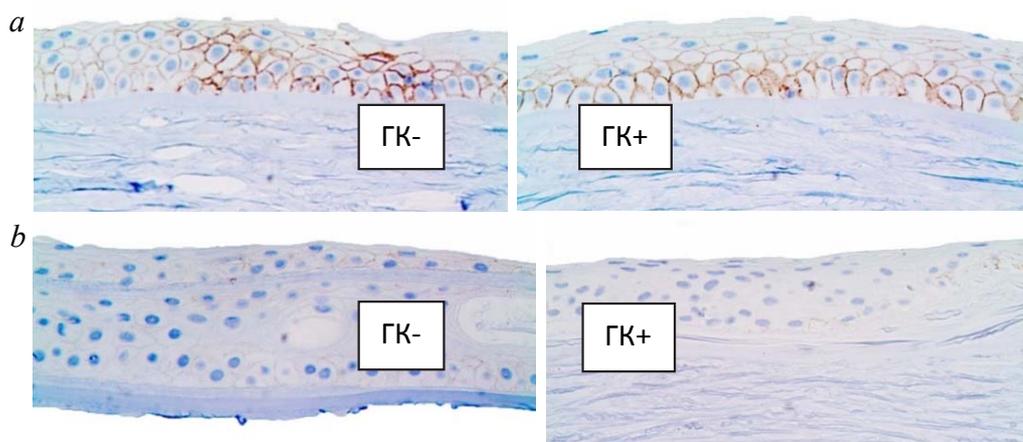


Рис. 4. Характер экспрессии CD44 в ткани эксплантов роговиц пациентов с приобретенными формами ЭЭД (а), дистрофией Фукса (b) в зависимости от протокола терапии (стандартный протокол – слева, протокол с применением ГК – справа). ИГХМ. Хромоген – диаминобензидин. Контрастное окрашивание – гематоксилином Майера.  $\times 40$

Fig. 4. CD44 expression in the tissue of corneal explants in the groups of the acquired forms of endothelial-epithelial dystrophy (a), Fuchs dystrophy (b) depending on the treatment protocol (standard protocol on the left, protocol using GC on the right). Chromogen – diaminobenzidine. Contrasting with Mayer hematoxylin.  $\times 40$

в зависимости от нозологической формы ЭЭД выявил отсутствие значимых различий между пациентами с врожденными формами ЭЭД и лицами группы контроля (рис. 3). Одновременно экспрессия CD44 при решетчатой дистрофии была более выраженной, чем при дистрофии Фукса.

В рамках анализа эффективности проводимой терапии (рис. 4) значимое снижение экспрессии CD44 на фоне предшествующего применения препаратов ГК имело место в группе пациентов с дистрофией Фукса ( $U = 4,16; p < 0,001$ ). Тенденция к некоторому снижению экспрессии CD44 при применении ГК наблюдалась также у пациентов с приобретенной ЭЭД ( $U = 241; p = 0,16$ ).

Полученные результаты можно объяснить улучшением способности роговицы к регенерации на фоне терапии с применением препарата ГК, что подтверждается литературными данными об уменьшении экспрессии CD44 по мере уменьшения альтеративных изменений роговицы после повреждения.

**Анализ экспрессии MMP9.** Основным звеном патогенеза БСГ является гиперосмолярность слезы, приводящая к активации провоспалительных цитокинов в эпителии роговицы, в том числе и MMP9 [9]. Важно оценить изменение уровня экспрессии данного маркера еще и потому, что экзогенное введение некоторых полисахаридов может увеличивать продукцию данного цитокина в эпителии, участвуя в дальнейшем потенцировании воспаления [10].

Экспрессия MMP9 выявлялась в ткани роговицы в виде цитоплазматического окрашивания эпителия (с преобладанием в базальных и парабазальных слоях) и стромы (с преобладанием в кератоцитах и лейкоцитах с выраженной экспрессией в очагах неоваскуляризации). Экспланты роговиц в группе контроля характеризовались негативным окрашиванием к MMP9 (рис. 5).

В группах пациентов с различными нозологическими формами ЭЭД экспрессия MMP9 в эпителии соответствовала таковой или была менее выраженной, чем в группе контроля, в то время как стромальная экспрессия MMP9 была более выраженной в группах пациентов с ЭЭД (рис. 5).

На фоне применения препаратов ГК анализ площади экспрессии MMP9 в ткани роговиц выявил значимое снижение показателя эпителиальной и стромальной позитивности в группе пациентов с приобретенными формами ЭЭД, а также уменьшение позитивности эпителиальной экспрессии MMP9 в группе лиц с дистрофией Фукса (рис. 6). В то же время в группе пациентов с решетчатой дистрофией роговицы, тип I, различия в эпителиальной и стромальной экспрессии MMP9 в зависимости от проводимой терапии отсутствовали.

Интенсивность ИГХ-реакции с моноклональными антителами к MMP9 в иммунопозитивных участках также уменьшалась на фоне применения инъекционных препаратов ГК: при при-

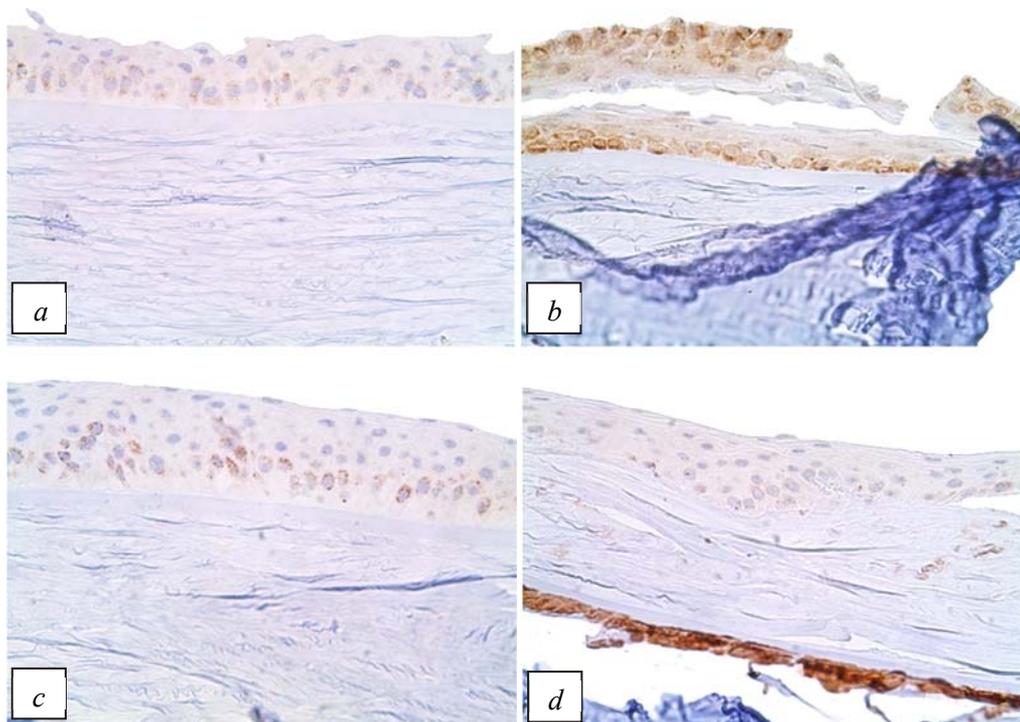


Рис. 5. Экспрессия MMP9 в ткани эксплантов роговиц в группе контроля (а), у пациентов с приобретенными формами ЭЭД (b), дистрофией Фукса (c) и решетчатой дистрофией роговицы, тип I (d) ИГХМ. Хромоген – диаминобензидин. Контрастное окрашивание – гематоксилином Майера.  $\times 40$

Fig. 5. MMP9 expression in the tissue of corneal explants in the control group (a), in patients with the acquired forms of endothelial-epithelial dystrophy (b), Fuchs dystrophy (c) and ethmoid corneal dystrophy, type I (d) IHM. Chromogen – diaminobenzidine. Contrasting with Mayer hematoxylin.  $\times 40$

обретенных формах ЭЭД как в эпителиальном, так и в стромальном компоненте роговиц, а при дистрофии Фукса – в эпителиальном компоненте (рис. 7). Одновременно в группе пациентов с решетчатой дистрофией роговицы, тип I, интенсивность экспрессии MMP9 на фоне ГК<sup>+</sup>-терапии значительно увеличивалась как в эпителии, так и в строме роговицы. При этом наиболее интенсивные отложения локализовались в зоне расположения амилоида.

Таким образом, согласно результатам проведенного дисперсионного анализа, на фоне предлагаемого варианта терапии ЭЭД с применением инъекционной формы ГК имело место значимое уменьшение как площади, так и интенсивности экспрессии MMP9 в группах пациентов с приобретенными формами ЭЭД и дистрофией Фукса, что свидетельствует об уменьшении интенсивности воспаления в эпителии роговицы. К тому же на фоне терапии уменьшалась степень дезорганизации компонентов экстрацеллюлярного матрикса роговицы, что объясняет полученный клинический эффект.

В случае решетчатой дистрофии на фоне включения в протокол терапии низкомолекулярной ГК наблюдалась противоположная картина – увеличение экспрессии CD44 в эпителии и MMP9 в эпителии и строме. Такие результаты объясняются тем, что субстратом решетчатой дистрофии является не воспаление, а амилоидоз. Изменение экспрессии потенцируется непосредственно экзогенным введением полисахарида. Вследствие необратимости изменений в тканях роговицы при решетчатой дистрофии инъекционная форма низкомолекулярной ГК применяется только с целью купирования проявлений БСГ и предоперационной подготовки. Восстановление зрительных функций возможно только оперативным путем.

**Экспрессия  $TGF\beta 1$**  выявлялась в ткани роговицы в виде цитоплазматического окрашивания базальных и парабазальных слоев эпителия и ядерного окрашивания эпителия поверхностных слоев, преимущественно цитоплазматического окрашивания стромальных элементов и эндотелия роговицы.

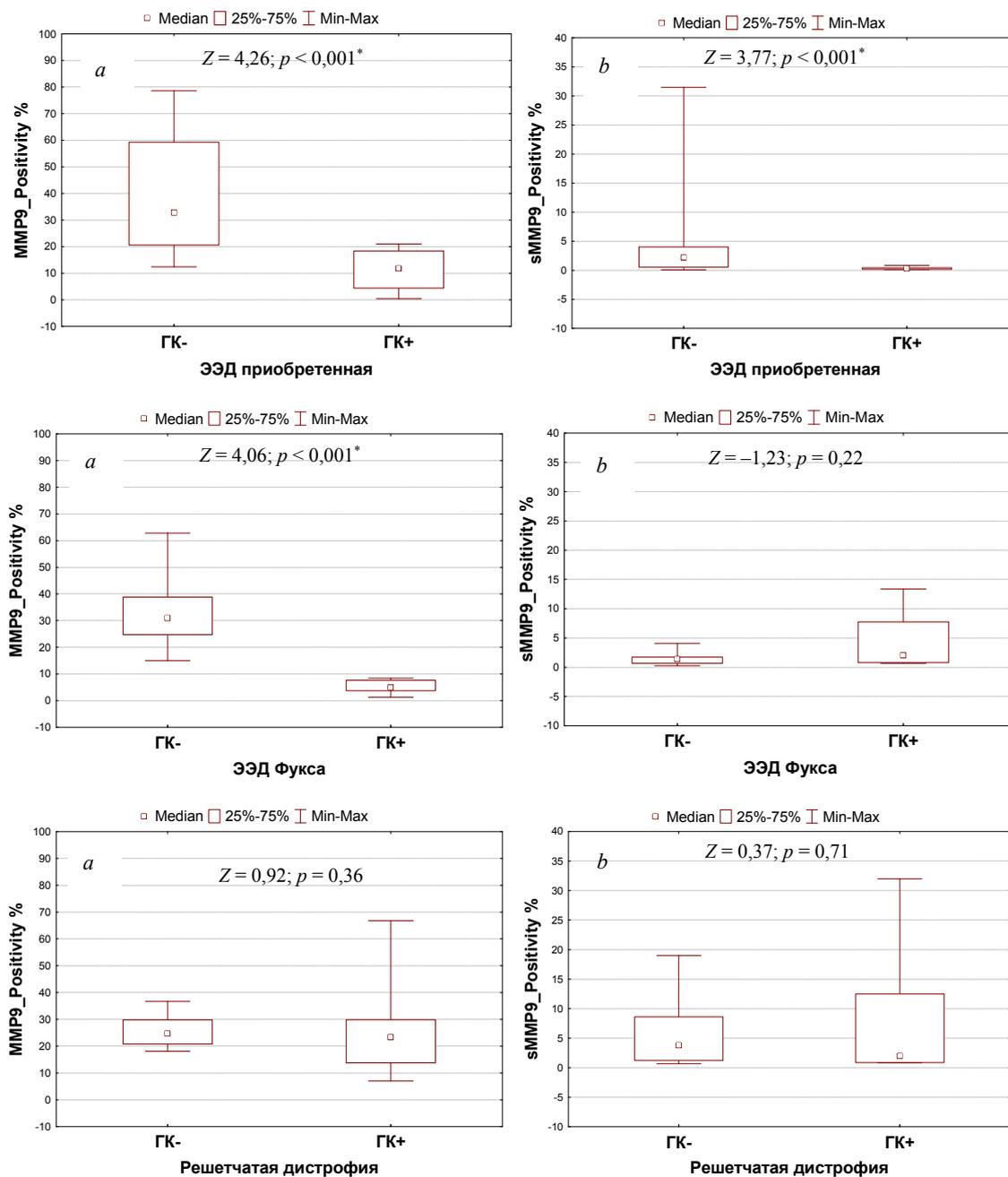


Рис. 6. Дисперсионный анализ позитивности экспрессии MMP9 в эпителии (a) и строме (b) эксплантов роговиц

Рис. 6. Дисперсионный анализ позитивности экспрессии MMP9 в эпителии (a) и строме (b) эксплантов роговиц при различных нозологических формах ЭЭД в зависимости от типа терапии. \* – различия достоверны при  $p < 0,05$

Fig. 6. Dispersion analysis of the MMP9 expression positivity in the epithelium (a) and stroma (b) of corneal explants in various nosological forms of endothelial-epithelial dystrophy depending on the therapy type.

\* – differences are significant at  $p < 0.05$

Экспланты роговиц в группе контроля характеризовались негативным или слабо выраженным окрашиванием к TGFβ1 эпителия, кератоцитов стромы и эндотелия роговицы. В группах же пациентов с различными нозологическими формами ЭЭД экспрессия TGFβ1 была более выраженной, чем в группе контроля.

Дисперсионный анализ экспрессии TGFβ1 в зависимости от нозологических форм ЭЭД выявил у пациентов с врожденными и приобретенными формами ЭЭД всех исследуемых групп значимо большие показатели экспрессии TGFβ1 в строме, чем у лиц группы контроля.

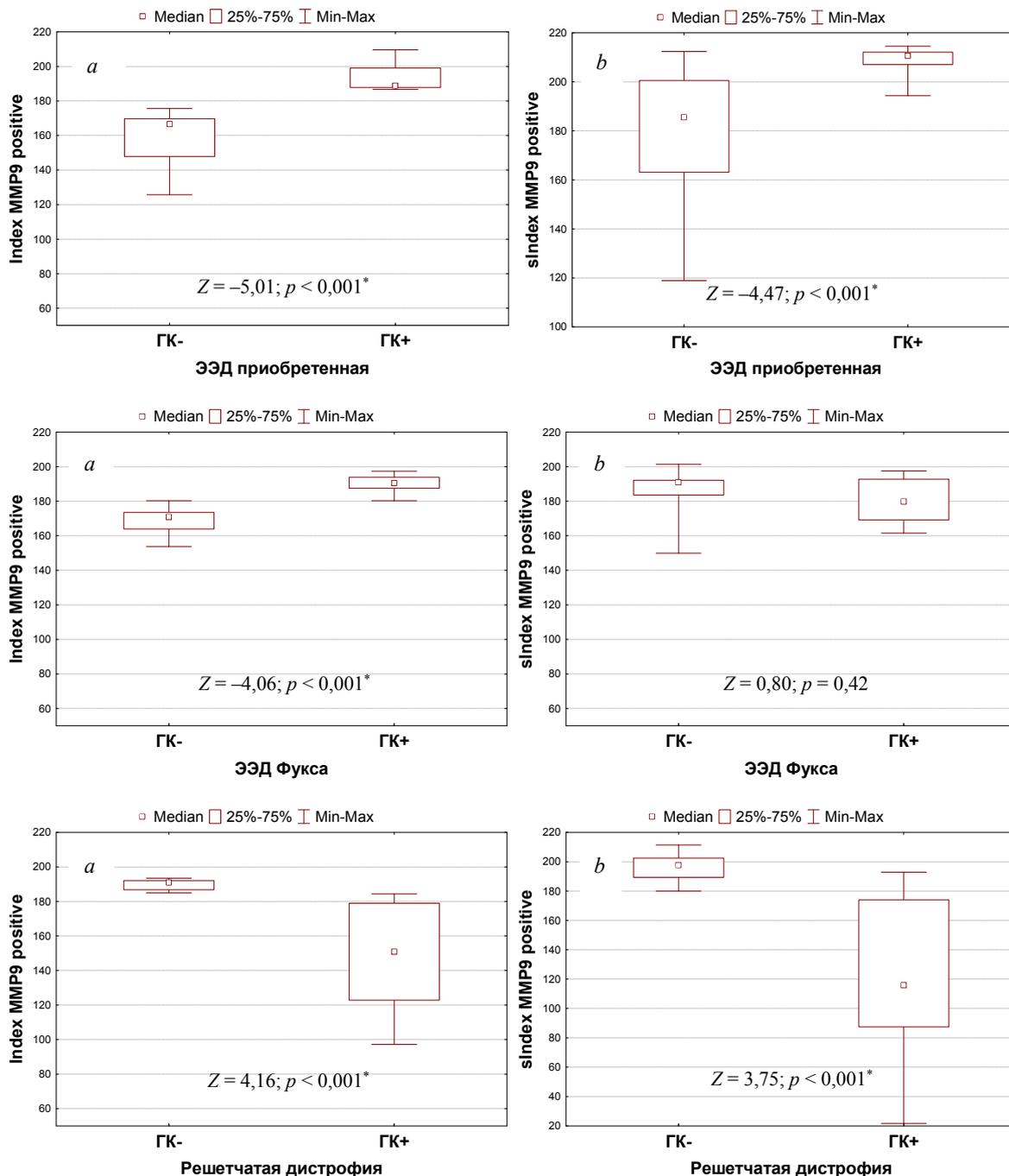


Рис. 7. Дисперсионный анализ индекса интенсивности MMP9 в иммунопозитивных участках эпителия (а) и стромы (б) эксплантов роговиц при различных нозологических формах ЭЭД в зависимости от типа терапии. \* – различия достоверны при  $p < 0,05$

Fig. 7. Dispersion analysis of the MMP9 intensity index in the immunopositive areas of epithelium (a) and stroma (b) of corneal explants in various nosological forms of endothelial-epithelial dystrophy depending on the therapy type. \* – differences are significant at  $p < 0.05$

Анализ характера экспрессии TGFβ1 в ткани роговиц на фоне применения препаратов ГК показал значимое снижение показателя позитивности стромальной экспрессии в группе пациентов с приобретенными формами ЭЭД (рис. 8).

Интенсивность ИГХ-реакции с моноклональными антителами к TGFβ1 в иммунопозитивных участках также уменьшалась на фоне применения инъекционных препаратов ГК при приобретенных формах ЭЭД, а также в стромальном компоненте в группе пациентов с решетчатой

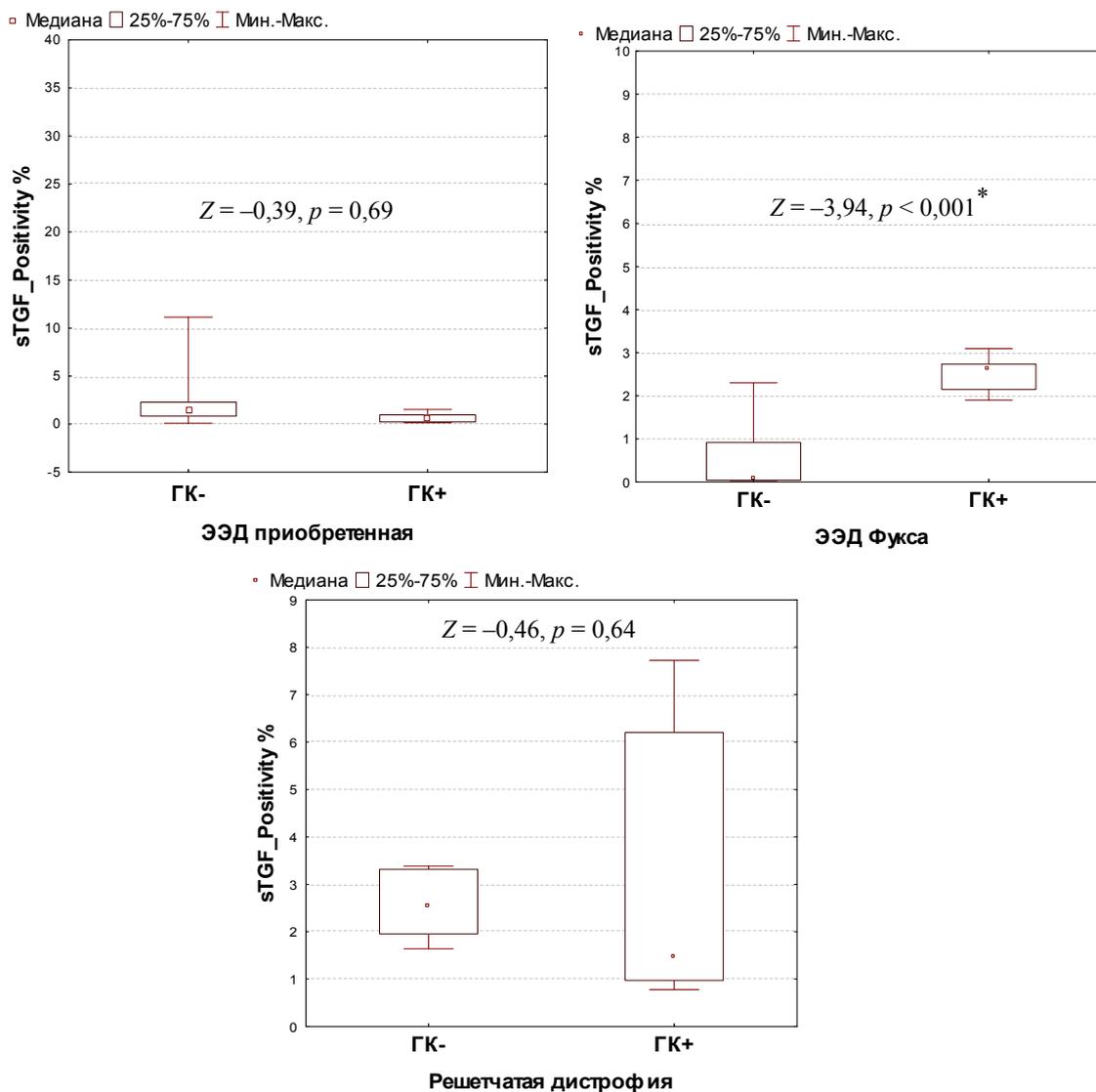


Рис. 8. Дисперсионный анализ позитивности экспрессии TGFβ1 в строме эксплантов роговиц при различных нозологических формах ЭЭД в зависимости от типа терапии

Fig. 8. Dispersion analysis of the TGFβ1 expression positivity in the stroma of corneal explants in various nosological forms of endothelial-epithelial dystrophy depending on the therapy type

дистрофией. В то же время в группе пациентов с дистрофией Фукса интенсивность экспрессии TGFβ1 на фоне ГК+-терапии значимо не изменялась (рис. 9).

Согласно результатам проведенного анализа, на фоне предлагаемого варианта терапии ЭЭД с применением инъекционной формы ГК отмечалось снижение профибротического действия TGFβ1 в группе пациентов с приобретенными формами ЭЭД.

**Заключение.** Субконъюнктивальное введение натрия гиалуроната является дешевым и эффективным методом лечения коморбидной БСГ. Низкомолекулярный гиалуронат способен не только обеспечить необходимую гидратацию, но и активировать процессы регенерации в эпителии роговицы, что благоприятно влияет на течение хронических дистрофических заболеваний роговицы.

Экзогенно введенная ГК подавляет воспаление в эпителии. При этом молекула ГК в 500–700 кДа достаточно мала для того, чтобы не индуцировать синтез и активацию провоспалительной MMP9 в эпителии роговицы. Низкомолекулярная ГК при ЭЭД в строме тормозит процессы фиброгенеза, подавляя экспрессию матричной металлопротеазы.

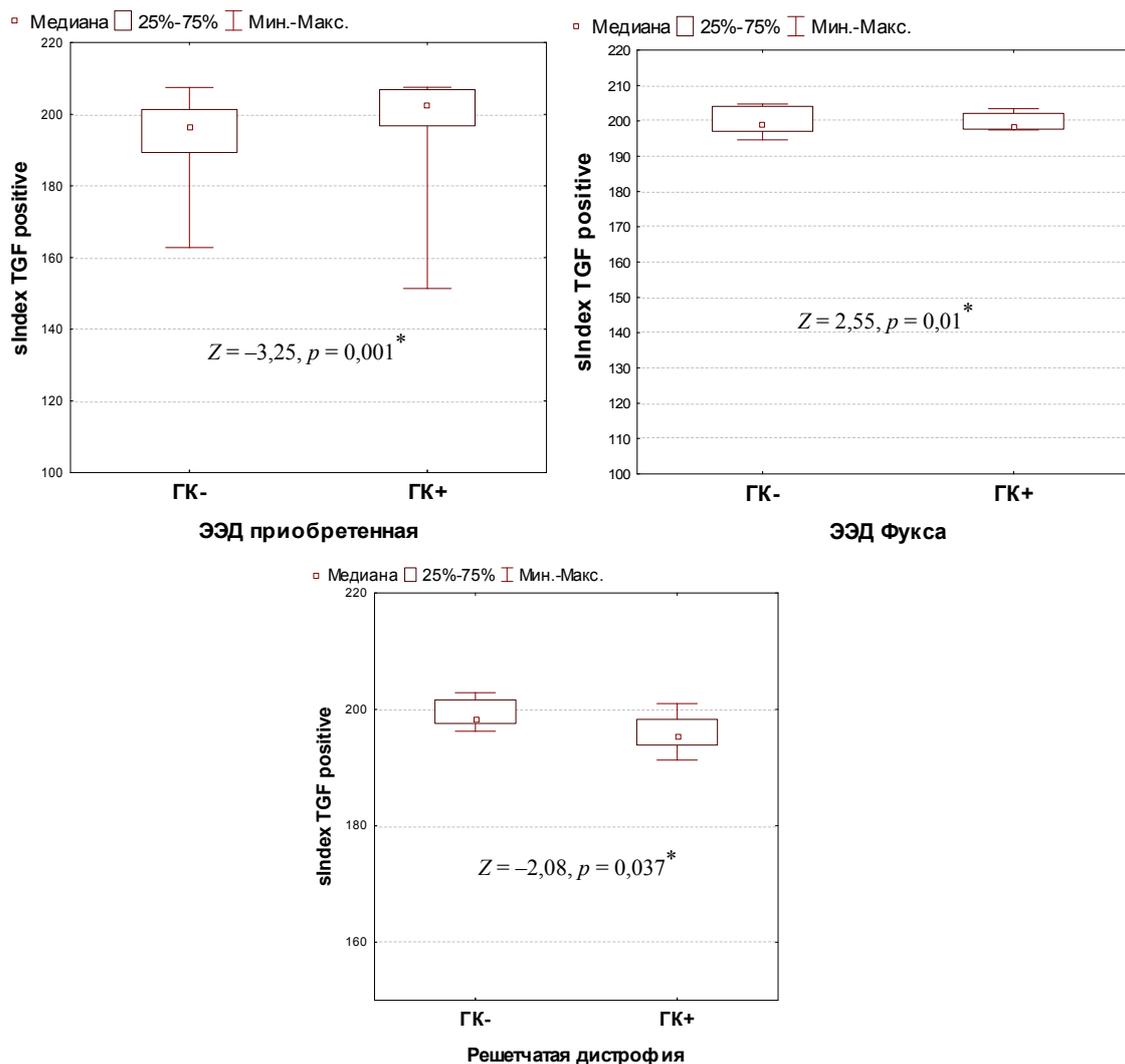


Рис. 9. Дисперсионный анализ индекса интенсивности TGFβ1 в иммунопозитивных участках и стромы эксплантов роговиц при различных нозологических формах ЭЭД в зависимости от типа терапии  
 Fig. 9. Dispersion analysis of the TGFβ1 intensity index in the immunopositive areas and stroma of corneal explants in various nosological forms of endothelial-epithelial dystrophy depending on the type of therapy

Терапия с применением инъекционной формы низкомолекулярного натрия гиалуроната стабилизирует водный, муциновый и липидный слои слезной пленки, способствуя тем самым разрешению проявлений БСГ.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

#### Список использованных источников

1. McCarey, B. E. Review of corneal endothelial specular microscopy for FDA clinical trials of refractive procedures, surgical devices and new intraocular drugs and solutions / B. E. McCarey, H. F. Edelhauser, M. J. Lynn // *Cornea*. – 2008. – Vol. 27, N 1. – P. 1–16. <https://doi.org/10.1097/ico.0b013e31815892da>
2. McCarey, B. E. Noncontact specular microscopy: a macrophotography technique and some endothelial cell findings / B. E. McCarey // *Ophthalmology*. – 1979. – Vol. 86, N 10. – P. 1848–1860. [https://doi.org/10.1016/s0161-6420\(79\)35337-4](https://doi.org/10.1016/s0161-6420(79)35337-4)
3. Changes in the normal corneal endothelia cellular pattern as a function of age / R. W. Yee [et al.] // *Curr. Eye Res.* – 1985. – Vol. 4, N 6. – P. 671–678. <https://doi.org/10.3109/02713688509017661>
4. Семак, Г. Р. Клинические результаты комплексного лечения кератопатий в исходе воспалительных заболеваний переднего отрезка глазного яблока с использованием инъекционной формы гиалуроновой кислоты / Г. Р. Семак, И. Ю. Жерко // *Мед. журн.* – 2019. – № 1. – С. 97–100.
5. Семак, Г. Р. Новый подход к лечению хронических дистрофических заболеваний роговицы / Г. Р. Семак, А. В. Людчик, И. Ю. Жерко // *Докл. Нац. акад. наук Беларуси*. – 2018. – Т. 62, № 6. – С. 719–724.

6. Hyaluronan enhances contraction of collagen by smooth muscle cells and adven-tialfibroblasts: role of CD44 and implications for constrictive remodeling / J. A. Travis [et al.] // *Circ. Res.* – 2001. – Vol. 88, N 1. – P. 77–83. <https://doi.org/10.1161/01.res.88.1.77>
7. Hyaluronan enhances bone marrow cell therapy for myocardial repair after in-farction / C.-H. Chen [et al.] // *Mol. Ther.* – 2013. – Vol. 21, N 3. – P. 670–679. <https://doi.org/10.1038/mt.2012.268>
8. Selective matrix (hyaluronan) interaction with CD44 and RhoGTPase signaling promotes keratinocyte functions and overcomes age-related epidermal dysfunction / L. Y. W. Bourguignon [et al.] // *J. Dermatol. Sci.* – 2013. – Vol. 72, N 1. – P. 32–44. <https://doi.org/10.1016/j.jdermsci.2013.05.003>
9. Hyaluronan, heterogeneity, and healing: the effects of ultrapure hyaluronan of definedmolecular size on the repair of full-thickness pig skin wounds / F. Arnold [et al.] // *Wound Repair Regen.* – 1995. – Vol. 3, N 3. – P. 299–310. <https://doi.org/10.1046/j.1524-475x.1995.30310.x>
10. The corneal basement membranes and stromal fibrosis / C. S. Medeiros [et al.] // *Invest. Ophthalmol. Visual Sci.* – 2018. – Vol. 59, N 10. – P. 4044–4053. <https://doi.org/10.1167/iovs.18-24428>

## References

1. McCarey B. E., Edelhauser H. F., Lynn M. J. Review of corneal endothelial specular microscopy for FDA clinical trials of refractive procedures, surgical devices and new intraocular drugs and solutions. *Cornea*, 2008, vol. 27, no. 1, pp. 1–16. <https://doi.org/10.1097/ico.0b013e31815892da>
2. McCarey B. E. Noncontact specular microscopy: a macrophotography technicue and some endothelial cell findings. *Ophthalmology*, 1979, vol. 86, no. 10, pp. 1848–1860. [https://doi.org/10.1016/s0161-6420\(79\)35337-4](https://doi.org/10.1016/s0161-6420(79)35337-4)
3. Yee R. W., Matsuda M., Schultz R. O., Edelhauser H. F. Changes in the normal corneal endothelia cellular pattern as a function of age. *Current Eye Research*, 1985, vol. 4, no. 6, pp. 671–678. <https://doi.org/10.3109/02713688509017661>
4. Semak G. R., Zherko I. Yu. Clinical results of complex treatment of keratopathies in the outcome of inflammatory diseases of the anterior segment of the eyeball using an injectable form of hyaluronic acid. *Meditsinskii zhurnal* [Medical journal], 2019, no. 1, pp. 97–100 (in Russian).
5. Semak G. R., Lyudchik A. V., Zherko I. Yu. A new approach to the treatment of chronic dystrophic diseases of the cornea. *Doklady Natsional'noi akademii nauk Belarusi = Doklady of the National Academy of Sciences of Belarus*, 2018, vol. 62, no. 6, pp. 719–724 (in Russian).
6. Travis J. A., Hughes M. G., Wong J. M., Wagner W. D., Geary R. L. Hyaluronan enhances contraction of collagen by smooth muscle cells and adven-tialfibroblasts: role of CD44 and implications for constrictive remodeling. *Circulation Research*, 2001, vol. 88, no. 1, pp. 77–83. <https://doi.org/10.1161/01.res.88.1.77>
7. Chen C.-H., Wang S.-S., Wei E. I., Chu T.-Y., Hsieh P. C. H. Hyaluronan enhances bone marrow cell therapy for myocardial repair after in-farction. *Molecular Therapy*, 2013, vol. 21, no. 3, pp. 670–679. <https://doi.org/10.1038/mt.2012.268>
8. Bourguignon L. Y. W., Wong G., Xia W., Man M.-Q., Holleran W. M., Elias P. M. Selective matrix (hyaluronan) interaction with CD44 and RhoGTPase signaling promotes keratinocyte functions and overcomes age-related epidermal dysfunction. *Journal of Dermatological Science*, 2013, vol. 72, no. 1, pp. 32–44. <https://doi.org/10.1016/j.jdermsci.2013.05.003>
9. Arnold F., Jia C., He C., Cherry G. W., Carbow B., Meyer-Ingold W., Bader D., West D. C. Hyaluronan, heterogeneity, and healing: the effects of ultrapure hyaluronan of definedmolecular size on the repair of full-thickness pig skin wounds. *Wound Repair and Regeneration*, 1995, vol. 3, no. 3, pp. 299–310. <https://doi.org/10.1046/j.1524-475x.1995.30310.x>
10. Medeiros C. S., Marino G. K., Santhiago M. R., Wilson S. E. The corneal basement membranes and stromal fibrosis. *Investigative Ophthalmology and Visual Science*, 2018, vol. 59, no. 10, pp. 4044–4053. <https://doi.org/10.1167/iovs.18-24428>

## Информация об авторах

Семак Галина Романовна – канд. мед. наук, доцент. Белорусский государственный медицинский университет (пр. Дзержинского, 83, 220116, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: semakgalina@mail.ru

Захарова Виктория Алексеевна. – канд. мед. наук, доцент. Белорусский государственный медицинский университет (пр. Дзержинского, 83, 220116, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: zakharava.vikt@gmail.ru

Клецкий Семен Кивович – канд. мед. наук, доцент. Белорусский государственный медицинский университет (пр. Дзержинского, 83, 220116, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: s.kletski@mail.ru

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

Жерко Ирина Юрьевна – мл. науч. сотрудник. Белорусский государственный медицинский университет (пр. Дзержинского, 83, 220116, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: zherko.irina@mail.ru

## Information about the authors

Galina R. Semak – Ph. D. (Med.), Assistant Professor. Belarusian State Medical University (83, Dzerzhinski Ave., 220116, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: semakgalina@mail.ru

Viktoria A. Zakharova – Ph. D. (Med.), Assistant Professor. Belarusian State Medical University (83, Dzerzhinski Ave., 220116, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: zakharava.vikt@gmail.ru

Semion K. Kletskiy – Ph. D. (Med.), Assistant Professor. Belarusian State Medical University (83, Dzerzhinski Ave., 220116, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: s.kletski@mail.ru

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

Iryna Yu. Zherko – Junior researcher. Belarusian State Medical University (83, Dzerzhinski Ave., 220116, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: zherko.irina@mail.ru

**АГЛЯДЫ**  
**REVIEWS**

УДК 616-002.182  
<https://doi.org/10.29235/1814-6023-2019-16-4-488-498>

Поступила в редакцию 02.11.2018  
Received 02.11.2018

**Л. К. Суркова<sup>1</sup>, Г. Л. Бородина<sup>2</sup>, Н. С. Шпаковская<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Республиканский научно-практический центр пульмонологии и фтизиатрии, Минск, Республика Беларусь

<sup>2</sup>Белорусский государственный медицинский университет, Минск, Республика Беларусь

**САРКОИДОЗ ОРГАНОВ ДЫХАНИЯ: ИММУНОПАТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ  
И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ПРОБЛЕМЫ**

**Аннотация.** Изучена проблема лечения больных саркоидозом органов дыхания на современном этапе. Рассматриваются аспекты иммунопатогенеза саркоидоза. Акцентируется внимание на вариабельности клинико-морфологических проявлений и целесообразности выделения клинико-морфологических фенотипов саркоидоза.

При дифференциальной диагностике туберкулеза и саркоидоза рекомендуется проводить комплексное исследование биоптатов, включающее морфологическое изучение и молекулярно-генетическое тестирование на микобактерии туберкулеза. Негативный результат молекулярно-генетического анализа тканевого субстрата повышает точность и достоверность морфологической верификации саркоидоза.

**Ключевые слова:** саркоидоз органов дыхания, патогенез, иммунопатогенез, патоморфология, диагностика саркоидоза

**Для цитирования:** Суркова, Л. К. Саркоидоз органов дыхания: иммунопатогенетические аспекты и диагностические проблемы / Л. К. Суркова, Г. Л. Бородина, Н. С. Шпаковская // Вест. Нац. акад. наук Беларуси. Сер. мед. наук. – 2019. – Т. 16, № 4. – С. 488–498. <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2019-16-4-488-498>

**L. K. Surkova<sup>1</sup>, G. L. Borodina<sup>2</sup>, N. S. Shpakovskaya<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Republican Scientific and Practical Center for Pulmonology and Tuberculosis, Minsk, Republic of Belarus

<sup>2</sup>Belarusian State Medical University, Minsk, Republic of Belarus

**RESPIRATORY SARCOIDOSIS: IMMUNOPATHOGENETIC ASPECTS AND DIAGNOSTIC PROBLEMS**

**Abstract.** The analysis of the state of the problem on the sarcoidosis of the respiratory organs at the present stage has been carried out. The aspects of sarcoidosis immunopathogenesis are considered. Attention is focused on the variability of clinical and morphological manifestations and the expediency of identifying clinical and morphological phenotypes of sarcoidosis.

In the differential diagnosis of tuberculosis and sarcoidosis, a comprehensive study of biopsy specimens is recommended, including a morphological study and a molecular study for mycobacterium tuberculosis. The negative result of a molecular study of a tissue substrate improves the accuracy and reliability of morphological verification of sarcoidosis.

**Keywords:** respiratory sarcoidosis, pathogenesis, immunopathogenesis, pathomorphology, diagnosis of sarcoidosis

**For citation:** Surkova L. K., Borodina G. L., Shpakovskaya N. S. Respiratory sarcoidosis: immunopathogenetic aspects and diagnostic problems. *Vesti Natsyonal'noi akademii navuk Belarusi. Seriya meditsinskikh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2019, vol. 16, no. 4, pp. 488–498 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2019-16-4-488-498>

**Введение.** На протяжении последних десятилетий во всем мире и в Республике Беларусь в частности отмечается неуклонный рост заболеваемости и распространенности саркоидоза органов дыхания [1–4], причем динамика патоморфоза этой патологии имеет отрицательную тенденцию [5].

Проблема саркоидоза сохраняет свою актуальность до настоящего времени: остается невыясненной причина заболевания, до конца не обоснована современная стратегия лечения саркоидоза, не предложено принципиально новых методов терапии [6].

Саркоидоз – это полисистемное заболевание неизвестной этиологии, которое характеризуется развитием эпителиоидно-клеточных гранул в различных органах и тканях (главным образом

в легких и лимфатических узлах средостения) [7–9] и нарушением нормальной архитектуры пораженного органа [1, 10–12].

Доказательств того, что патология при саркоидозе связана с активным инфекционным процессом либо с реактивацией туберкулеза, равно как и с аутоиммунным процессом, не получено. Для саркоидоза характерно отсутствие контагиозности и эпидемического распространения. По официальным статистическим данным, заболеваемость саркоидозом в Республике Беларусь за 15 лет (с 1997 г. по 2012 г.) увеличилась с 4,1 до 8,0 на 100 тыс. населения. Увеличение заболеваемости саркоидозом связано как с улучшением диагностики вследствие широкого внедрения в практику методов малоинвазивной эндоскопической и хирургической биопсии, так и с истинным ростом заболеваемости [3, 5, 10].

Вероятность возникновения, течение и прогноз саркоидоза обусловлены многими факторами [3, 9]. Допускаются два возможных пути развития саркоидоза: возникновение гранулем обусловлено либо некими неизвестными агентами (частицами), либо является следствием генетически детерминированного процесса на фоне измененной иммунной реактивности [7, 13].

**Роль генетических факторов.** Генетические факторы играют важную роль в предрасположенности к болезни и в ее течении. Считается, что развитие гранулематозного воспаления обусловлено преимущественно генетически детерминированной восприимчивостью к антигену [14]. Вероятность возникновения и тяжесть течения саркоидоза связана с генами гистосовместимости HLA. Ген HLA *LQBA\*0201-DRB1\*0301* ассоциирован с рецидивирующим течением, ген HLA *DQB1\*0602-DRB1\*15010* характерен для хронического активного течения саркоидоза [15–17], ген HLA *CDQB1\*11* – для внелегочного саркоидоза [15, 16, 18]. Показана возможность ассоциации между полиморфизмом генов фактора некроза опухоли и восприимчивостью к болезни и ее прогнозом. Установлено, что наличие аллеля TNF-A2 защищает от тяжелого течения саркоидоза, тогда как присутствие аллеля TNF-B1 повышает риск развития заболевания [19].

**Морфология гранулемы при саркоидозе.** Гранулема при саркоидозе является иммунной, так как в ней происходят иммунные реакции, направленные на элиминацию персистирующего мало деградирующего, пока неустановленного антигена [14, 20]. Гранулема при саркоидозе состоит из активированных и трансформированных макрофагов, таких как эпителиоидные клетки, а также из активированных CD4+ и CD8+ клеток [21, 22].

Современные литературные данные свидетельствуют, что соотношение клеток в саркоидной гранулеме может варьироваться. Выделяют эпителиоидно-клеточные, гигантоклеточные, эпителиоидно-лимфоцитарные гранулемы, гранулемы с парциальным фиброзом, иногда напоминающие амилоид, гиалинизирующиеся гранулемы [13].

При иммуногистохимическом исследовании выявлено, что CD4+ клетки экспрессируют маркеры активации (HLA-DR, VLA-1) и CD-25 (IL-2R) и располагаются преимущественно во внутренних зонах гранулемы. CD8+ лимфоциты (супрессорно-цитотоксические) локализованы в наружных зонах гранулемы, 80 % фибробластических элементов по периферии гранулемы имеют миофибробластическую природу и экспрессируют гладкомышечный актин ( $\alpha$ SMA) [20].

Высокая тканевая экспрессия фактора роста эндотелия сосудов (VEGF) в легочной ткани рассматривается как маркер активности и эффективности терапии при системном саркоидозе [23].

Морфологические проявления гранулематозного воспаления при саркоидозе определяются генетически обусловленными особенностями иммунного ответа [24].

**Иммуногенетическая концепция патогенеза саркоидоза.** Генеральная концепция иммунопатогенеза саркоидоза заключается в воздействии триггера в виде саркоид-ассоциированного антигена (микроб?) – органического и неорганического агента, который захватывается макрофагом и с участием хемокинов (IP-10 и RANTES) презентует антиген Т-клеткам [25]. Из микробных триггеров доказанной считается потенциальная роль микобактерий туберкулеза [26]. Активированные макрофаги продуцируют провоспалительные цитокины и хемокины [27–30]. Гранулема образуется в результате взаимодействия медиаторов и плохо деградируемого и персистирующего антигена. Т-клетки, экспрессирующие  $\alpha, \beta$  TCR-рецепторы, распознают молекулы HLA (главного комплекса гистосовместимости) и передают информацию на антигенпрезентирующие клетки. С презентацией антигена связана олигоклональная экспансия  $\alpha, \beta$  CD+ клеток, поляризация иммунного ответа в сторону Th-1 профиля (Th-17). Одновременно имеют место дефицит регуляторных Т-клеток, снижение экспрессии транскрипционного фактора Foxp3. В легких аккумулируются главным образом CD4+ Т-клетки,

активация которых увеличивает экспрессию IL-2R и HLA-DR и продукцию высокого уровня Th-1 цитокинов (ИЛ-2, ИНФ- $\gamma$ ) [31, 32]. Указанные цитокины обеспечивают преимущественное развитие клеточного иммунного ответа. При участии ИНФ- $\gamma$  и ФНО- $\alpha$  происходит формирование эпителиоидно-клеточной гранулемы. Основную роль в патогенезе саркоидоза играют ИНФ- $\gamma$  и клетки Th-1 и Th-17 [32]. Th-2 продуцируют цитокины ИЛ-4, ИЛ-5, ИЛ-10, ИЛ-13, которые отвечают за развитие гуморального ответа, а также снижают регуляцию таких хемокинов, как IP-10 и RANTES, которые являются важными в активации Т-клеток. В случае изменения Th-1 профиля на Th-2 цитокиновый паттерн увеличивается в сторону продукции цитокина ИЛ-4, который не только является хемоаттрактантом для фибробластов, но и стимулирует эти клетки и продукцию компонентов экстрацеллюлярного матрикса, что ведет к развитию фиброза [33].

У больных саркоидозом легких развитие и прогрессирование фиброза легких происходит на фоне смещения равновесия цитокинов Th-1/Th-2 в сторону Th-2, что проявляется увеличением соотношения ИЛ-4/ИЛ-2 в периферической крови [34–36]. Один из важнейших регуляторных цитокинов, поддерживающих баланс между Th-1 и Th-2, является ИЛ-12, который продуцируется макрофагами. ИЛ-12 увеличивает количество Th-1, помогая хозяину защититься от микроорганизма, который контролируется клеточным иммунным ответом.

Другой важный регуляторный компонент – ИНФ- $\gamma$ , который подавляет функционирование Th-2. Иммунный ответ по Th-1 профилю происходит с продукцией ИЛ-12 активированными макрофагами и с продукцией ИНФ- $\gamma$  Т-клетками. В свою очередь Th-2 могут продуцировать ИЛ-10, который является супрессивным интерлейкином и подавляет функцию Th-1.

**Характеристика фиброза.** Фиброз при саркоидозе фокусируется вокруг гранулем и ассоциируется с активацией фибробластов и продукцией компонентов экстрацеллюлярного матрикса, таких как фибронектин и коллаген. Важную роль в стимулировании фибробластов к пролиферации и продукции компонентов экстрацеллюлярного матрикса играют макрофаги. В развитии фиброза участвуют трансформирующий ростовой фактор (TGF $\beta$ ), тромбоцитарный (PDGF) и инсулиноподобный (IGF) ростовые факторы и гранулоцитарный колониестимулирующий фактор (GM-CSF) [33].

Многие публикации последних лет посвящены изучению патогенеза, роли генетических факторов и оценке значимости ферментов и биомаркеров при саркоидозе.

Установлено, что компоненты, приводящие к формированию гранулем, обладают свойствами амилоида и приона [6, 10]. Большое количество амилоида приводит к образованию саркоидных гранул и определяет дальнейший механизм хронического течения саркоидоза.

Уровень фиколина-3, способного распознавать некоторые бактерии, в сыворотке крови больных саркоидозом был достоверно ниже, чем у здоровых лиц, что указывало на участие этих веществ в патогенезе саркоидоза [37]. Установлено, что активная форма саркоидоза обусловлена низкими значениями витамина Д (25-гидрокси-холекальциферол) в сыворотке крови [38].

Показана значимость уровня хитотриозидазы в сыворотке крови как маркера тяжести течения саркоидоза, поскольку ее информативность в 3 раза выше активности ангиотензинпревращающего фермента [38].

Постоянно обсуждаемым остается вопрос о потенциальной связи саркоидоза и туберкулеза [10]. Согласно результатам проведенных ранее исследований, на наличие связи саркоидоза и туберкулеза указывают выявленные у 51,1 % больных саркоидозом зернистые формы микобактерий туберкулеза и их L формы (в крови, мокроте и бронхоальвеолярном смыве) [39].

Каждая гранулема при саркоидозе проходит несколько стадий развития. Большинство отечественных авторов выделяют три стадии развития саркоидной гранулемы: пролиферативную (гиперпластическую), гранулематозную, фиброзно-гиалинозную [40]. В биоптатах можно обнаружить гранулемы на разных стадиях развития.

При саркоидозе в 35 % случаев возможно развитие центрального некроза [41], который расценивается как фибриноидный в отличие от казеозной некротизации туберкулезных бугорков [7, 41].

Соответствия между лучевыми стадиями саркоидоза как болезни и морфологическими стадиями развития гранулемы не установлено [13, 41]. Саркоидоз органов дыхания характеризуется многообразием клинических проявлений с гетерогенным исходом: со спонтанной регрессией, регрессией на фоне лечения, стабилизацией состояния (спонтанная или индуцированная) или прогрессированием, волнообразным течением, рецидивом и обширными фиброзными изменениями, постгранулематоз-

ным фиброзом, что важно для выделения клинических фенотипов, прогноза и оценки эффективности лечения [13, 42]. Развивающийся фиброз затрудняет диагностику саркоидоза.

В последние годы отмечаются отрицательные тенденции в динамике патоморфоза саркоидоза, что проявляется атипичной картиной саркоидоза органов дыхания с частыми осложнениями, неэффективностью гормональной терапии, более редкой спонтанной регрессией и все более частым рецидивирующим и прогрессирующим течением заболевания [5].

**Факторы риска.** Важным является установление факторов риска, ассоциированных с рецидивирующим течением саркоидоза. Показатель рецидивов варьируется от 13 до 75 % [43, 44], при этом рецидивы отмечаются в сроки от 1 мес. до 1 года после снижения или прекращения терапии [9, 43, 45].

Наиболее информативными прогнозирующими предикторами рецидивирующего течения саркоидоза органов дыхания являются сочетание второй стадии заболевания с женским полом и возрастом старше 41 года, наличие ожирения и остеопороза или третьей стадии саркоидоза [46]. А. А. Зайцев с соавт. [47] выделяют следующие критерии риска рецидивирующего течения саркоидоза: возраст старше 35 лет, наличие клинических проявлений, фиксированной жизненной емкости легких <85 % от должной величины и терапия глюкокортикостероидами в анамнезе. По данным А. М. Титковой [48], рецидивирующий вариант течения саркоидоза с ускоренным развитием фиброза отмечается у 11 % пациентов.

По мнению D. Valeyre с соавт. [14], саркоидоз чаще всего является активным, о чем свидетельствуют данные F-фтордезоксиглюкоза-позитронно-эмиссионной томографии (ПЭТ), при этом серийная спирометрия считается самым надежным критерием эволюции заболевания. Следует отметить, что одним из факторов риска, связанных с высокой частотой рецидива саркоидоза, является использование кортикостероидов в анамнезе [43, 49]. Выживаемость пациентов с легочным саркоидозом может быть представлена интегрированным алгоритмом, основанным на оценке легочной функции и данных компьютерной томографии [14].

В качестве критерия для определения прогрессирования заболевания предложен растворимый рецептор ИЛ-2, который рассматривается как маркер активности саркоидоза [50–52]. Ранее доступные маркеры активности саркоидоза, такие как сывороточный ангиотензинпревращающий фермент, сканирование с галлием-64, показатели бронхоальвеолярного лаважа, в настоящее время не являются критериями предсказуемых рецидивов саркоидоза. Многие рецидивы саркоидоза на самом деле представляют собой хроническое заболевание, которое было подавлено иммунодепрессией, но ремиссия при этом не достигалась [9]. По мнению ряда авторов, обострения легочного саркоидоза довольно распространены и отмечаются у более чем одной трети пациентов [14, 53].

В литературе очень мало сообщений относительно факторов риска, диагностики и лечения обострений саркоидоза [53]. До настоящего времени не обнаружено надежных прогностических биомаркеров [26]. Поэтому внимание к диагностике острых обострений легочного саркоидоза и улучшению качества лечения пациентов остается актуальным [12].

**Методы диагностики, включая молекулярно-генетические методы дифференциальной диагностики.** Высокочастотная компьютерная томография (ВКТ) является более точной по сравнению с рентгенографией органов грудной клетки для выявления активности аномальных структур легких и обеспечения их всестороннего обзора [54]. ВКТ позволяет точно дифференцировать обратимые и необратимые изменения в легких, что является краеугольным камнем прогнозирования течения заболевания.

По мнению А. М. Титковой [48], более точно оценить активность саркоидоза позволяет биопсия легких и других органов.

Наиболее часто используемым методом диагностики саркоидоза является трансбронхиальная биопсия (ТББ) легких и внутригрудных лимфатических узлов. Информативность ТББ при саркоидозе колеблется в значительных пределах – от 40 до 70 % [55–57].

В исследованиях многих авторов показано, что с увеличением числа биоптатов (не менее 5–6) информативность ТББ возрастает [55, 57–59].

В последнее время среди малоинвазивной эндоскопической биопсии легкого и внутригрудных лимфатических узлов доминирует метод трансбронхиальной игольной аспирации под контролем эндобронхиального УЗИ [10].

Ряд авторов считают, что при отрицательных результатах морфологического исследования ТББ легочной ткани и атипичной клинико-рентгенологической симптоматике целесообразно проводить

видеоассистированную торакоскопию с одновременной биопсией легочной ткани и увеличенных лимфатических узлов средостения [55].

На сегодняшний день видеоторакоскопия является самой информативной малоинвазивной диагностически точной процедурой. Ряд авторов сообщают, что результативность гистологического исследования при саркоидозе довольно высока – до 90,4 % [56].

В клинической практике врачи чаще всего действуют в соответствии с международным соглашением по саркоидозу, согласно которому диагностика саркоидоза основана на трех хорошо известных критериях: 1) наличие хорошо сформированной гранулемы при исследовании биопсийного материала; 2) наличие соответствующих саркоидозу клинических и лучевых проявлений заболевания; 3) исключение других причин гранулематозных заболеваний [60].

В клинической практике эти критерии трудно реализовать, поэтому имеет место как гипо-, так и гипердиагностика саркоидоза [12].

Морфологическая диагностика саркоидоза базируется на структурно-клеточной специфичности саркоидной гранулемы. Для гистологической верификации диагноза саркоидоза важно предоставление морфологу сведений о наличии соответствующих саркоидозу клинических и рентгенологических проявлений заболевания, одновременное исследование разных биоптатов (легкие, внутригрудные лимфатические узлы) и исключение других заболеваний, вызывающих сходные морфологические проявления.

Известно, что на разнообразные этиологические факторы макроорганизм может реагировать в значительной степени однотипными морфологическими реакциями с образованием гранулем. Дифференциальная диагностика саркоидоза на морфологическом субстрате представляется сложной задачей, так как саркоидоз следует дифференцировать с большим количеством заболеваний и все известные причины гранулематозного воспаления должны быть исключены [7]. Гранулемы, разнообразные по своему гистогенезу и эволюции, формируются при туберкулезе, микобактериозе, бруцеллезе, сапе, туляремии, сифилисе, грибковой и некоторых паразитарных инвазиях, при пневмоконииозе, изолированных и сочетанных с туберкулезом заболеваний соединительной ткани, болезни Вегенера, злокачественных заболеваниях и различных патологиях, развивающихся на фоне врожденного и приобретенного иммунодефицита [13, 41].

Несмотря на различия морфологической структуры туберкулезной и саркоидной гранулемы, в 15,0 % случаев возникают затруднения в точной морфологической верификации диагноза [13, 41]. Ввиду трудности выполнения дифференциальной диагностики требуется комплексный подход с применением дополнительных методов исследования биопсийного материала. Полученные образцы ткани могут быть использованы для молекулярно-генетического и иммуногистохимического исследований. Окраска срезов на кислотоустойчивые микобактерии (КУБ) по Цилю–Нильсену не разрешает диагностические проблемы, так как КУБ не выявляются даже в заведомо туберкулезной гранулеме. Полученные нами негативные результаты в отношении ДНК МБТ в биоптатах легких ( $n = 30$ ) при молекулярно-генетическом исследовании являлись дополнительным критерием дифференциальной диагностики саркоидоза и туберкулеза на морфологическом субстрате. При ретроспективном анализе биопсийного материала, поступившего в Республиканский консультативный фтизиопульмонологический центр ГУ «РНПЦ пульмонологии и фтизиатрии» за период 2015–2017 гг., у большой группы пациентов ( $n = 296$ ) выявлены морфологические особенности саркоидоза, наиболее четко проявившиеся в последние годы: частое развитие некрозов (у 32,7 % пациентов), причем не только в центре, но и вне гранулем или одновременно в центре и вне гранулем; раннее развитие фиброзирования и гиалиноза гранулем; сочетание как свежих, так и фиброзирующихся и гиалинизирующихся гранулем, гранулем с дистрофическими изменениями эпителиоидных клеток; частое сочетание рубцово-склеротических изменений со свежими гранулемами; преобладание фиброзно-гиалинозных изменений над объемом гранулематозного компонента (в 30,4 % случаев) и развитие саркоидоза с выраженными фиброзными изменениями.

А. М. Титковой [48] установлены морфологические критерии активности и прогноза заболевания: лимфогистиоцитарная инфильтрация ( $p < 0,001$ ), некротизирующий гранулематозный васкулит, преобладание в гранулемах эпителиоидных клеток ( $p < 0,001$ ) и гранулем в стенке бронха ( $p < 0,05$ ).

Диагностика саркоидоза осложняется его неоднородностью, а следовательно, подходы к лечению должны основываться на различных его фенотипах [5, 26].

На основании клинико-морфологических и иммунологических исследований выделено два варианта течения саркоидоза: 1) вариант с выраженными клиническими проявлениями, преобладанием гранулематоза и преимущественно клеточных иммунологических реакций; 2) вариант со скудной клинической симптоматикой, выраженным фиброзом и преобладанием гуморальных иммунологических реакций [61].

При саркоидозе с минимальными фиброзными изменениями отмечаются высокая местная активность клеточных иммунных реакций, определяющих эффективность элиминации антигенного стимула и выраженность клинических проявлений, а при саркоидозе с выраженными фиброзными изменениями – низкая активность иммунных реакций и отсутствие клинических проявлений. Считается, что гиперпластическая и гранулематозная стадии являются выражением нарастания напряженности клеточного иммунитета, а фиброзные и гиалинозные изменения – морфологическим признаком наступления фазы иммунологического истощения [13]. Е. В. Гончарова [62] на основании объективной морфометрической оценки гранулематозного воспаления в лимфатических узлах и легких и данных корреляционного анализа выделила тканевые реакции при саркоидозе, коррелирующие с клиническими особенностями течения заболевания: с минимальным фиброзом и высокой местной активностью; с выраженным фиброзом и низкой местной активностью. Показано, что тканевые реакции с минимальным фиброзом характеризовались высокой объемной плотностью гранулематоза и низкой фиброза, крупными гранулемами с высоким содержанием в них гигантских многоядерных клеток. Тип тканевой реакции с выраженным фиброзом отличался распространенными фиброзными изменениями, мелкими размерами гранулем и низким содержанием в них гигантских многоядерных клеток.

Структура легких при саркоидозе нарушается в результате гранулематозного воспаления, альвеолита, бронхиолита и склеротических изменений. При прогрессировании саркоидоза происходит ремоделирование легочной ткани, но только в 20–25 % случаев развивается глубокое ремоделирование [20]. Отсутствие в большинстве случаев глубокого ремоделирования легочной ткани обусловлено невысокой продукцией матриксной металлопротеиназы (ММП) на фоне относительного повышения тканевого ингибитора металлопротеиназы-1 (ТИМП-1), пролиферацией клеток гранулемы и макрофагов в зоне альвеолита и бронхиолита [63]. Показано, что степень экспрессии факторов роста, апоптоза, ММП и ТИМП различна при разных клинико-морфологических вариантах саркоидоза [20].

При саркоидозе отмечается рост смертности от хронической респираторной недостаточности, легочной гипертензии, что связано с множественными механизмами и дополнительной инфекцией [14]. Легочная гипертензия признана значимым осложнением саркоидоза и в последнее время стала предметом дальнейших исследований.

**Заключение.** В последние десятилетия наблюдается рост заболеваемости саркоидозом органов дыхания во всем мире и в Республике Беларусь. До настоящего времени остается невыясненной причина заболевания, отмечается вариабельность морфологических проявлений этой патологии, обсуждается вопрос о вероятности патоморфоза саркоидоза, отсутствуют терапевтические рекомендации в отношении новых методов лечения. Предметом дальнейших исследований являются: уточнение иммуногенетических механизмов патогенеза, выявление новых маркеров активности, обострения, прогноза болезни и факторов риска развития саркоидоза, клинико-морфологические сопоставления и выделение клинико-морфологических фенотипов. С учетом появления новых высокоточных диагностических технологий и современных научных знаний по проблеме саркоидоза новыми инновационными направлениями в решении этой важной проблемы являются: разработка научно обоснованной программы ранней диагностики саркоидоза, новые подходы к лечению и тактике ведения пациентов с этой патологией.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

#### Список использованных источников

1. Clinical presentation of sarcoidosis and diagnostic work-up / D. Valeyre [et al.] // *Semin. Respir. Crit. Care Med.* – 2014. – Vol. 36. – P. 336–351. <https://doi.org/10.1055/s-0034-1381229>
2. Борисевич, Г. А. Саркоидоз органов дыхания в Белорусской ССР (вопросы эпидемиологии, клиники, дифференциальная диагностика и лечение) : автореф. дис. ... канд. мед. наук / Г. А. Борисевич ; Белорус. гос. ин-т усовершенств. врачей. – Минск, 1979. – 24 с.
3. Бородина, Г. Л. Динамика заболеваемости и распространенности саркоидоза в Республике Беларусь / Г. Л. Бородина // *Мед. журн.* – 2005. – № 3. – С. 4–5.

4. Визель, А. А. Эпидемиология саркоидоза в Российской Федерации / А. А. Визель, И. Ю. Визель, Н. Б. Амиров // Вестн. совр. клин. мед. – 2017. – Т. 10, № 5. – С. 66–73.
5. Клинико-морфологические параллели течения саркоидоза органов дыхания / И. А. Пальчикова [и др.] // Туберкулез и болезни легких. – 2017. – Т. 95, № 3. – С. 48–54.
6. Визель, А. А. Саркоидоз в выступлениях и публикациях ежегодной конференции Американского торакального общества (ATS 2016) / А. А. Визель, И. Ю. Визель // РМЖ. – 2017. – Т. 25, № 3. – С. 206–210.
7. Lesch, R. Die Sarkoidose aus der Sicht des Pathologen / R. Lesch, H. K. Koch // Der Internist. – 1982. – Vol. 23, N 6. – P. 304–313.
8. Cottin, V. Sarcoidosis from bench to bedside: a state-of-the-art series for the clinician / V. Cottin, J. Müller-Quernheim // Eur. Respir. J. – 2012. – Vol. 40, N 1. – P. 14–16. <https://doi.org/10.1183/09031936.00070712>
9. Baughman, R. P. Relapses of sarcoidosis what a they and can we predict who will get them / R. P. Baughman, M. A. Judson // Eur. Resp. J. – 2014. – Vol. 43, N 2. – P. 337–339. <https://doi.org/10.1183/09031936.00138913>
10. Визель, А. А. Саркоидоз: обзор работ последних лет / А. А. Визель // Пульмонология. – 2009. – №1. – С. 83–89.
11. Consequences of sarcoidosis / M. Drent [et al.] // Clin. Chest. Med. – 2015. – Vol. 36, N 4. – P. 727–737. <https://doi.org/10.1016/j.ccm.2015.08.013>
12. Management of sarcoidosis in clinical Practice / F. Jeny [et al.] // Eur. Respir. Rev. – 2016. – Vol. 25, N 140. – P. 141–150. <https://doi.org/10.1183/16000617.0013-2016>
13. Диагностика и лечение саркоидоза. Резюме Федеральных клинических согласительных рекомендаций. Ч. I. Классификация, этиопатогенез, клиника / А. Г. Чучалин [и др.] // Вестн. совр. клин. медицины. – 2014. – Т. 7, № 4. – С. 62–70.
14. Sarcoidosis / D. Valeyre [et al.] // Lancet. – 2014. – Vol. 383, N 9923. – P. 1155–1167. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(13\)60680-7](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(13)60680-7)
15. Assotion of HLA-DR with sarcoidosis: correlation with clinical course / S. Abe [et al.] // Chest. – 1987. – Vol. 92, N 3. – P. 488–490. <https://doi.org/10.1378/chest.92.3.488>
16. Lenhart, K. HLA antigens associated with sarcoidosis / K. Lenhart, V. Kolek, A. Bártova // Dis. Markers. – 1990. – Vol. 8, N 1. – P. 23–29.
17. The sarcoidosis map: a joint survey of clinical and immunogenetic finding in two European countries / M. Martinetti [et al.] // Am. J. Resp. Crit. Care Med. – 1995. – Vol. 152, N 2. – P. 557–564. <https://doi.org/10.1164/ajrccm.152.2.7633707>
18. Rybicki, B. A. Epidemiology of sarcoidosis: recent advances and future prospects / B. A. Rybicki, M. C. Iannuzzi // Semin. Respir. Crit. Care Med. – 2007. – Vol. 28, N 1. – P. 022–035. <https://doi.org/10.1055/s-2007-970331>
19. *TNF-alpha* and *TNF-beta* gene polymorphism in Polish patients with sarcoidosis. Connection with the susceptibility and prognosis / R. Kieszko [et al.] // Eur. Res. J. – 2008. – Vol. 32, suppl. 52. – Ref. 3169.
20. Морфологические, иммуногистохимические и радиологические проявления ремоделирования легочной ткани при саркоидозе легких / Е. А. Коган [и др.] // Архив патологии. – 2012. – Т. 74, № 3. – С. 37–43.
21. In situ demonstration of T lymphocyte subsets in granulomatous inflammation: leprosy, rhinoscleroma and sarcoidosis / R. L. Modlin [et al.] // Clin. Exp. Immunol. – 1983. – Vol. 51, N 3. – P. 430–438.
22. Characterization of distribution of T lymphocyte subsets and activated T-lymphocytes infiltrating into sarcoid lesions / S. Kita [et al.] // Intern. Med. – 1995. – Vol. 34, N 9. – P. 847–855. <https://doi.org/10.2169/internalmedicine.34.847>
23. Сосудистый фактор роста как маркер активности и эффективности терапии при системном саркоидозе / М. В. Лебедева [и др.] // Инновационные технологии и прогресс терапевтической клиники / под ред. И. Л. Мухина. – М., 2008. – С. 13–16.
24. Макарова, О. В. Иммуноморфология гранулематозного воспаления T<sub>H</sub>1 и T<sub>H</sub>2-типа иммунного ответа / О. В. Макарова, Л. П. Михайлова // Архив патологии. – 2008. – Т. 70, № 6. – С. 48–53.
25. Bronchoalveolar lavage cells from sarcoidosis patients and healthy controls can efficiently present antigens / J. Grunewald [et al.] // J. Intern. Med. – 1999. – Vol. 245, N 4. – P. 353–357. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2796.1999.00482.x>
26. Morgenthau, A. S. Recent advances in sarcoidosis / A. S. Morgenthau, M. C. Lannuzzi // Chest. – 2011. – Vol. 139, N 1. – P. 174–182. <https://doi.org/10.1378/chest.10-0188>
27. Involvement of the IP-10 chemokine in sarcoid granulomatous reactions / C. Agostini [et al.] // J. Immunol. – 1998. – Vol. 161, N 11. – P. 6413–6420.
28. Production of the RANTES chemokine in delayed-type hypersensitivity reactions: involvement of macrophages and endothelin cells [published erratum appears in J. Exp. Med. 1994, Aug 1 180. p.775] / O. Devergne [et al.] // J. Exp. Med. – 1994. – Vol. 179, N 5. – P. 1689–1694. <https://doi.org/10.1084/jem.179.5.1689>
29. Hunninghake, G. W. Release of interleukin-1 by alveolar macrophages of patients with active pulmonary sarcoidosis / G. W. Hunninghake // Am. Rev. Respir. Dis. – 1984. – Vol. 129, N 4. – P. 567–572.
30. Increased secretion of tumor necrosis factor-alpha, interleukin-1-beta and interleukin-6 by alveolar macrophages from patients with sarcoidosis / M. Steffen [et al.] // J. Allergy Clin. Immunol. – 1993. – Vol. 91, N 4. – P. 939–949.
31. Bias toward use of a specific T cell receptor beta-chain variable region in a subgroup of individuals with sarcoidosis / D. R. Moller [et al.] // J. Clin. Invest. – 1988. – Vol. 82, N 4. – P. 1183–1191. <https://doi.org/10.1172/jci113715>
32. Enhanced expression of IL-12 associated with Th1 cytokine profiles in acute pulmonary sarcoidosis / D. R. Moller [et al.] // J. Immunol. – 1996. – Vol. 156, N 12. – P. 4952–4960.
33. Agostini, C. Sarcoidosis news: immunologic frontiers for new immunosuppressive strategies / C. Agostini, U. Costabel, G. Semenzato // Clin. Immunol. Immunopathol. – 1998. – Vol. 88, no. 2. – P. 199–204. <https://doi.org/10.1006/clin.1998.4544>

34. Сесь, Т. П. Особенности воспалительного процесса при саркоидозе легких / Т. П. Сесь // Цитокины и воспаление. – 2002. – Т. 1, № 3. – С. 3–6.
35. Сесь, Т. П. Иммунологические аспекты патогенеза хронических воспалительных заболеваний легких (на примере саркоидоза). Методы диагностики и лечения / Т. П. Сесь // Рос. ринология. – 2004. – № 1. – С. 25–30.
36. Изменения спектра цитокинов крови у больных саркоидозом легких / С. А. Терпигорев [и др.] // Тер. архив. – 2013. – Т. 85, № 3. – С. 23–27.
37. Ficolins and mannose-binding lectin in Danish patients with sarcoidosis / C. B. Svendsen [et al.] // Eur. Resp. J. – 2008. – Vol. 32, suppl. 52. – Ref. 3172.
38. Vitamin D deficiency and activity of sarcoidosis / S. Filipovic [et al.] // Eur. Respir. J. – 2016. – Vol. 48, suppl. 60. – PA 827. <https://doi.org/10.1183/13993003.congress-2016.PA827>.
39. Особенности течения саркоидоза у больных с персистирующим зернистым форм микобактерий / Л. В. Озерова [и др.] // Пульмонология, 2000. – № 1. – С. 53–56.
40. Саркоидоз / под ред. А. Г. Хоменко, О. Швайгер. – М. : Медицина, 1982. – 292 с.
41. Саркоидоз : учеб.-метод. пособие / под ред. А. Г. Чучалина. – Казань : Изд-во Казан. гос. мед. ун-та, 2010. – 58 с.
42. Outcome of sarcoidosis / S. Nagai [et al.] // Clin. Chest Med. – 2008. – Vol. 29, N 3. – P. 565–574. <https://doi.org/10.1016/j.ccm.2008.03.006>
43. Outcome in sarcoidosis. The relationship of relapse to corticosteroid therapy / J. E. Gottlieb [et al.] // Chest. – 1997. – Vol. 111, N 3. – P. 623–631. <https://doi.org/10.1378/chest.111.3.623>
44. Johns, C. J. The clinical management of sarcoidosis. A 50-year experience at the Johns Hopkins hospital / C. J. Johns, T. M. Michele // Medicine (Baltimore). – 1999. – Vol. 78, N 2. – P. 65–111. <https://doi.org/10.1097/00005792-199903000-00001>
45. Rizzato, G. The late follow-up chronic sarcoid patents previously treated with corticosteroids / G. Rizzato, L. Montemurro, P. Colombo // Sarcoidosis Vasc. Diffuse Lung Dis. – 1998. – Vol. 15, N 1. – P. 52–58.
46. Саликова, Н. А. Критерии прогнозирования рецидивирующего течения саркоидоза органов дыхания : автореф. дис. ... канд. мед. наук : 14.01.25 / Н. А. Саликова ; Науч.-исслед. ин-т пульмонологии М-ва здравоохранения Рос. Федерации. – М., 2011. – 26 с.
47. Зайцев, А. А. Саркоидоз: критерии и инструменты прогноза рецидивирующего течения / А. А. Зайцев, В. В. Крюков, Д. Н. Антипушина // Практ. пульмонология. – 2015. – № 2. – С. 28–31.
48. Титкова, А. М. Клиническая оценка активности и прогноза саркоидоза легких хронического течения : автореф. дис. ... канд. мед. наук : 14.00.05, 14.00.43 / А. М. Титкова ; Моск. мед. акад. им. И. М. Сеченова. – М., 2009. – 23 с.
49. Factor analysis of sarcoidosis phenotypes two referral centers in Brazil / S. C. Rodrigues [et al.] // Sarcoidosis Vasc. Diffuse Lung Dis. – 2011. – Vol. 28, N 1. – P. 34–43.
50. Sarcoidosis: TNF- $\alpha$  release from alveolar macrophages and serum level of sIL-2R are prognostic markers / M. W. Ziegenhagen [et al.] // Am. J. Respir. Crit. Care Med. – 1997. – Vol. 156, N 5. – P. 1586–1592. <https://doi.org/10.1164/ajrccm.156.5.97-02050>
51. Potential usefulness of inflammatory markers to monitor respiratory functional impairment in sarcoidosis / S. Rothkrantz-Kos [et al.] // Clin. Chem. – 2003. – Vol. 49, N 9. – P. 1510–1517. <https://doi.org/10.1373/49.9.1510>
52. Comparative evaluation of serum markers in pulmonary sarcoidosis / S. Miyoshi [et al.] // Chest. – 2010. – Vol. 137, N 6. – P. 1391–1397. <https://doi.org/10.1378/chest.09-1975>
53. Panselinas, E. Acute pulmonary exacerbations of sarcoidosis / E. Panselinas, M. A. Judson // Chest. – 2012. – Vol. 142, N 4. – P. 827–836. <https://doi.org/10.1378/chest.12-1060>
54. Imaging of sarcoidosis / M. Silva [et al.] // Clin. Rev. Allergy Immunol. – 2015. – Vol. 49, N 1. – P. 45–53. <https://doi.org/10.1007/s12016-015-8478-7>
55. Оценка эффективности различных методов биопсии легкого и внутригрудных лимфоузлов при саркоидозе / К. И. Ершова [и др.] // Альманах клин. медицины. – 2011. – № 25. – С. 41–47.
56. Clinical presentations and diagnostic work-up in sarcoidosis: a series of Turkish cases (clinics and diagnosis of sarcoidosis) / G. Kiter [et al.] // Tuberk Toraks. – 2011. – Vol. 59, N 3. – P. 248–258. <https://doi.org/10.5578/tt.2495>
57. Judson, M. A. The diagnosis of sarcoidosis / M. A. Judson // Clin. Chest Med. – 2008. – Vol. 29, N 3. – P. 415–427. <https://doi.org/10.1016/j.ccm.2008.03.009>
58. Koontz, C. H. Transbronchoscopic lung biopsy via the fiberoptic bronchoscope in sarcoidosis / C. H. Koontz, L. R. Joyner, R. A. Netson // Ann. Intern. Med. – 1976. – Vol. 85, N 1. – P. 64–66. <https://doi.org/10.7326/0003-4819-85-1-64>
59. Transbronchoscopic lung biopsy in sarcoidosis. Optimal number and sites for diagnosis / R. A. Roette [et al.] // Chest. – 1980. – Vol. 77, N 3. – P. 400–402. <https://doi.org/10.1378/chest.77.3.400>
60. Wells, A. U. Interstitial lung disease guideline: the British Thoracic Society in collaboration with the Thoracic Society of Australia and New Zealand and the Irish Thoracic Society / A. U. Wells, N. Hirani // Thorax. – 2008. – Vol. 63, suppl. 5. – P. v1–v58. <https://doi.org/10.1136/thx.2008.101691>
61. Михайлова, Л. П. Иммуноморфология гранулематозного воспаления при саркоидозе, экспериментальном туберкулезе и применении иммуномодуляторов : автореф. дис. ... д-ра мед. наук : 14.00.15 / Л. П. Михайлова ; Научно-исследовательский институт морфологии человека РАМН. – М., 2006. – 48 с.
62. Гончарова, Е. В. Клинико-морфологические сопоставления при гранулематозных болезнях легких : автореф. дис. ... канд. мед. наук : 14.00.26 / Е. В. Гончарова ; НИИ фтизиопульмонологии Моск. мед. академии. – М., 1998. – 24 с.
63. Кичигина, О. Н. Клинико-морфологические и иммуногистохимические особенности различных вариантов саркоидоза легких : автореф. дис. ... канд. мед. наук : 14.03.02 / О. Н. Кичигина ; Первый моск. гос. мед. ун-т. им. И. М. Сеченова. – М., 2012. – 25 с.

## References

1. Valeyre D., Bernaudin J.-F., Uzunhan Y., Kambouchner M., Brillet P.-Y., Soussan M., Nunes H. Clinical presentation of sarcoidosis and diagnostic work-up. *Seminars in Respiratory and Critical Care Medicine*, 2014, vol. 36, pp. 336–351. <https://doi.org/10.1055/s-0034-1381229>
2. Borisevich G. A. Respiratory sarcoidosis in the Byelorussian SSR (issues of epidemiology, clinic, differential diagnosis and treatment. Abstract of Ph. D. diss. Minsk, 1979. 24 p. (in Russian).
3. Borodina G. L. Dynamics of incidence and prevalence of sarcoidosis in the Republic of Belarus. *Meditinskii zhurnal* [Medical journal], 2005, no. 3, pp. 4–5 (in Russian).
4. Vizeľ A. A., Vizeľ I. Yu., Amirov N. B. Epidemiology of sarcoidosis in the Russian Federation. *Vestnik sovremennoi klinicheskoi meditsiny* [Bulletin of modern clinical medicine], 2017, vol. 10, no. 5, pp. 66–73 (in Russian).
5. Pal'chikova I. A., Chernyavskaya G. M., Kalacheva T. P., Purlik I. L., Denisova O. A., Poponina T. M. Clinical and morphological parallels in the course of respiratory sarcoidosis. *Tuberkulez i bolezni legkikh* [Tuberculosis and lung diseases], 2017, vol. 95, no. 3, pp. 48–54 (in Russian).
6. Vizeľ A. A., Vizeľ I. Yu. Sarcoidosis in speeches and publications of the annual conference of the American Thoracic Society (ATS 2016). *Russkii meditsinskii zhurnal* [Russian medical journal], 2017, vol. 25, no. 3, pp. 206–210 (in Russian).
7. Lesch R., Koch H. K. Die Sarkoidose aus der Sicht des Pathologen. *Der Internist*, 1982, vol. 23, no. 6, pp. 304–313.
8. Cottin V., Müller-Quernheim J. Sarcoidosis from bench to bedside: a state-of-the-art series for the clinician. *European Respiratory Journal*, 2012, vol. 40, no. 1, pp. 14–16. <https://doi.org/10.1183/09031936.00070712>
9. Baughman R. P., Judson M. A. Relapses of sarcoidosis what a they and can we predict who will get them. *European Respiratory Journal*, 2014, vol. 43, no. 2, pp. 337–339. <https://doi.org/10.1183/09031936.00138913>
10. Vizeľ A. A. Sarcoidosis: review of works of recent years. *Pul'monologiya* [Pulmonology], 2009, no. 1, pp. 83–89 (in Russian).
11. Drent M., Strookappe B., Hoitsma E., De Vries J. Consequences of sarcoidosis. *Clinics in Chest Medicine*, 2015, vol. 36, no. 4, pp. 727–37. <https://doi.org/10.1016/j.ccm.2015.08.013>
12. Jeny F., Bouvry D., Freynet O., Soussan M., Brauner M., Planès C., Nunes H., Valeyre D. Management of sarcoidosis in clinical practice. *European Respiratory Review*, 2016, vol. 25, no. 140, pp. 141–150. <https://doi.org/10.1183/16000617.0013-2016>
13. Chuchalin A. G., Vizeľ A. A., Il'kovich M. M., Avdeev S. N., Amirov N. B., Baranova O. P. [et al.]. Diagnosis and treatment of sarcoidosis. Summary of Federal Clinical Consensus Recommendations. Pt. I. Classification, etiopathogenesis, clinic. *Vestnik sovremennoi klinicheskoi meditsiny* [Bulletin of modern clinical medicine], 2014, vol. 7, no. 4, pp. 62–70 (in Russian).
14. Valeyre D., Prasse A., Nunes H., Uzunhan Y., Brillet P.-Y., Müller-Quernheim J. Sarcoidosis. *Lancet*, 2014, vol. 383, no. 9923, pp. 1155–1167. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(13\)60680-7](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(13)60680-7)
15. Abe S., Yamaguchi E., Makimura S. Assotion of HLA-DR with sarcoidosis: correlation with clinical course. *Chest*, 1987, vol. 92, no. 3, pp. 488–490. <https://doi.org/10.1378/chest.92.3.488>
16. Lenhart K., Kolek V., Bártova A. HLA antigens associated with sarcoidosis. *Disease Markers*, 1990, vol. 8, no. 1, pp. 23–29.
17. Martinetti M., Tinell C., Kolek V., Cuccia M., Salvaneschi L., Pasturenzi L., Semenzato G., Cipriani A., Bartova A., Luisetti M. The sarcoidosis map: a joint survey of clinical and immunogenetic finding in two European countries. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 1995, vol. 152, no. 2, pp. 557–564. <https://doi.org/10.1164/ajrccm.152.2.7633707>
18. Rybicki B. A., Iannuzzi M. C. Epidemiology of sarcoidosis: recent advances and future prospects. *Seminars in Respiratory and Critical Care Medicine*, 2007, vol. 28, no. 1, pp. 022–035. <https://doi.org/10.1055/s-2007-970331>
19. Kieszko R., Chocholska S., Krawczyk P., Milanowski J. *TNF-alpha* and *TNF-beta* gene polymorphism in Polish patients with sarcoidosis. Connection with the susceptibility and prognosis. *European Respiratory Journal*, 2008, vol. 32, suppl. 52, ref. 3169.
20. Kogan E. A., Kichigina O. N., Demura S. A. Osipenko V. I. Morphological, immunohistochemical and radiological manifestations of lung tissue remodeling at lung sarcoidosis. *Arkhiv patologii* [Archives of pathology], 2012, no. 3, pp. 37–43 (in Russian).
21. Modlin R. L., Hofman F. M., Meyer P. R., Sharma O. P., Taylor C. R., Rea T. H. In situ demonstration of T lymphocyte subsets in granulomatous inflammation: leprosy, rhinoscleroma and sarcoidosis. *Clinical and Experimental Immunology*, 1983, vol. 51, no. 3, pp. 430–438.
22. Kita S., Tsuda T., Sugisaki K., Miyazaki E., Matsumoto T. Characterization of distribution of T lymphocyte subsets and activated T-lymphocytes infiltrating into sarcoid lesions. *Internal Medicine*, 1995, vol. 34, no. 9, pp. 847–855. <https://doi.org/10.2169/internalmedicine.34.847>
23. Lebedeva M. V., Fomin V. V., Popova E. H., Titkova A. M., Kondarova O. V., Ponomarev A. B. Vascular growth factor as a marker of the activity and effectiveness of therapy in systemic sarcoidosis. *Innovatsionnye tekhnologii i progress terapevticheskoi kliniki* [Innovative technologies and progress of the therapeutic clinic]. Moscow, 2008, pp. 13–16 (in Russian).
24. Makarova O. V., Mikhailova L. P. Immunomorphology of granulomatous inflammation of Tx1 and Tx2-type immune response]. *Arkhiv patologii* [Archives of pathology], 2008, vol. 70, no. 6, pp. 48–53 (in Russian).
25. Grunewald J., Eklund A., Wigzell H., Van Meijgaarden K. E., Ottenhoff T. H. M. Bronchoalveolar lavage cells from sarcoidosis patients and healthy controls can efficiently present antigens. *Journal of Internal Medicine*, 1999, vol. 245, no. 4, pp. 353–357. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2796.1999.00482.x>

26. Morgenthau A. S., Lannuzzi M. C. Recent advances in sarcoidosis. *Chest*, 2011, vol. 139, no. 1, pp. 174–182. <https://doi.org/10.1378/chest.10-0188>
27. Agostini C., Cassatella M., Zambello R., Trentin L., Gasperini S., Perin A. [et al.]. Involvement of the IP-10 chemokine in sarcoid granulomatous reactions. *Journal of Immunology*, 1998, vol. 161, no. 11, pp. 6413–6420.
28. Devergne O., Marfaing-Koka A., Schall T. J., Leger-Ravet M. B., Sadick M., Peuchmaur M., Crevon M. C., Kim K. J., Schall T. T., Kim T. Production of the RANTES chemokine in delayed-type hypersensitivity reactions: involvement of macrophages and endothelin cells [published erratum appears in *J. Exp. Med.* 1994. Aug 1 180. p.775]. *Journal of Experimental Medicine*, 1994, vol. 179, no. 5, pp. 1689–1694. <https://doi.org/10.1084/jem.179.5.1689>
29. Hunninghake G. W. Release of interleukin-1 by alveolar macrophages of patients with active pulmonary sarcoidosis. *American Review of Respiratory Disease*, 1984, vol. 129, no. 4, pp. 567–572.
30. Steffen M., Petersen J., Oldigs M., Karmeier A., Magnussen H., Thiele H. G., Raedler A. Increased secretion of tumor necrosis factor-alpha, interleukin-1-beta and interleukin-6 by alveolar macrophages from patients with sarcoidosis. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 1993, vol. 91, no. 4, pp. 939–949.
31. Moller D. R., Konishi K., Kirby M., Balbi B., Crystal R. G. Bias toward use of a specific T cell receptor beta-chain variable region in a subgroup of individuals with sarcoidosis. *Journal of Clinical Investigation*, 1988, vol. 82, no. 4, pp. 1183–1191. <https://doi.org/10.1172/jci113715>
32. Moller D. R., Forman J. D., Liu M. C., Noble P. W., Greenlee B. M., Vyas P. [et al.]. Enhanced expression of IL-12 associated with Th1 cytokine profiles in acute pulmonary sarcoidosis. *Journal of Immunology*, 1996, vol. 156, no. 12, pp. 4952–4960.
33. Agostini C., Costabel U., Semenzato G. Sarcoidosis news: immunologic frontiers for new immunosuppressive strategies. *Clinical Immunology and Immunopathology*, 1998, vol. 88, no. 2, pp. 199–204. <https://doi.org/10.1006/clin.1998.4544>
34. Ses' T. P. Features of the inflammatory process in lung sarcoidosis. *Tsitokiny i vospaleniye* [Cytokines and inflammation], 2002, no. 3, pp. 3–6 (in Russian).
35. Ses' T. P. Immunological aspects of pathogenesis of chronic inflammatory lung diseases (on the example of sarcoidosis). Methods of diagnosis and treatment. *Rossiiskaya rinologiya* [Russian rhinology], 2004, no. 1, pp. 25–30 (in Russian).
36. Terpigorev S. A., Novikov A. A., El' Zein B. A., Aleksandrova E. N., Yazdovskii V. V., Moskalets O. V., Paleev F. N. Changes in the spectrum of blood cytokines in patients with sarcoidosis of the lungs. *Terapevticheskii arkhiv* [Therapeutic archiv], 2013, vol. 85, no. 3, pp. 23–27 (in Russian).
37. Svedsen C.B., Hummelshoj T., Munthe-Fog L., Milman N., Garred P., Laursen I. A., Christiansen M., Krogfelt K. A. Ficolins and mannose-binding lectin in Danish patients with sarcoidosis. *European Respiratory Journal*, 2008, vol. 32, suppl. 52, ref. 3172.
38. Filipovic S., Vucinic V., Videnovic J., Stjepanovic M., Jandric A. Vitamin D deficiency and activity of sarcoidosis. *European Respiratory Journal*, 2016, vol. 48, suppl. 60, PA 827. <https://doi.org/10.1183/13993003.congress-2016.PA827>
39. Ozerova L. V., Romanov V. V., Zaitseva I. P., Safonova S. G., Rybakova N. P., Shemetun O. N., Gedymin L. G. Features of the course of sarcoidosis in patients with persistence of granular forms of mycobacteria. *Pul'monologiya* [Pulmonology], 2000, no. 1, pp. 53–56 (in Russian).
40. Khomenko A. G., Schwaiger O. (ed.). *Sarcoidosis*. Moscow, Meditsina Publ., 1982. 292 p. (in Russian).
41. Chuchalin A. G. (ed.). *Sarcoidosis: the teaching method. manual for students of postgraduate and additional professional education*. Kazan, Publishing House of Kazan State Medical University, 2010. 58 p. (in Russian).
42. Nagai S., Handa T., Ito Y., Ohta K., Tamaya M., Izumi T. Outcome of sarcoidosis. *Clinics in Chest Medicine*, vol. 29, no. 3, pp. 565–574. <https://doi.org/10.1016/j.ccm.2008.03.006>
43. Gottlieb J. E., Israel H. L., Steiner R. M., Triolo J., Patrick H. Outcome in sarcoidosis. The relationship of relapse to corticosteroid therapy. *Chest*, 1997, vol. 111, no. 3, pp. 623–631. <https://doi.org/10.1378/chest.111.3.623>
44. Johns C. J., Michele T. M. The clinical management of sarcoidosis. A 50-year experience at the Johns Hopkins hospital. *Medicine (Baltimore)*, 1999, vol. 78, no. 2, pp. 65–111. <https://doi.org/10.1097/00005792-199903000-00001>
45. Rizzato G., Montemurro L., Colombo P. The late follow-up chronic sarcoid patients previously treated with corticosteroids. *Sarcoidosis Vasculitis and Diffuse Lung Diseases*, 1998, vol. 15, no. 1, pp. 52–58.
46. Salikova N. A. Criteria for predicting recurrent respiratory sarcoidosis. Abstract of Ph. D. diss. Moscow, 2011. 26 p. (in Russian).
47. Zaitsev A. A., Kryukov E. V., Antipushina D. N. Sarcoidosis: criteria and tools for predicting a relapsing course. *Prakticheskaya pul'monologiya* [Practical pulmonology], 2015, no. 2, pp. 28–31 (in Russian).
48. Titkova A. M. Clinical assessment of the activity and prognosis of chronic lung sarcoidosis. Abstract of Ph. D. diss. Moscow, 2009. 23 p. (in Russian).
49. Rodrigues S. C., Rocha N. A., Lima M. S., Arakaki J. S., Coletta E. N., Ferreira R. G., Gonzaga L. R., Pereira C. A. Factor analysis of sarcoidosis phenotypes two referral centers in Brazil. *Sarcoidosis Vasculitis and Diffuse Lung Diseases*, 2011, vol. 28, no. 1, pp. 34–43.
50. Ziegenhagen M. W., Benner U. K., Zissel G., Zabel P., Schlaak M., Müller-Quernheim J. Sarcoidosis: TNF- $\alpha$  release from alveolar macrophages and serum level of sIL-2R are prognostic markers. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 1997, vol. 156, no. 5, pp. 1586–1592. <https://doi.org/10.1164/ajrccm.156.5.97-02050>
51. Rothkrantz-Kos S., van Dieijen-Visser M. P., Mulder P. G., Drent M. Potential usefulness of inflammatory markers to monitor respiratory functional impairment in sarcoidosis. *Clinical Chemistry*, 2003, vol. 49, no. 9, pp. 1510–1517. <https://doi.org/10.1373/49.9.1510>

52. Miyoshi S., Hamada H., Kadowaki T., Hamaguchi N., Ito R., Irifune K., Higaki J. Comparative evaluation of serum markers in pulmonary sarcoidosis. *Chest*, 2010, vol. 137, no. 6, pp. 1391–1397. <https://doi.org/10.1378/chest.09-1975>
53. Panselinas E., Judson M. A. Acute pulmonary exacerbations of sarcoidosis. *Chest*, 2012, vol. 142, no. 4, pp. 827–836. <https://doi.org/10.1378/chest.12-1060>
54. Silva M., Nunes H., Valeyre D., Sverzellati N. Imaging of sarcoidosis. *Clinical Reviews in Allergy and Immunology*, 2015, vol. 49, no. 1, pp. 45–53. <https://doi.org/10.1007/s12016-015-8478-7>
55. Ershova K. I., Terpigorev S. A., Kuzmichev V. A., Mazurin V. S., Shabaro V. L. Evaluation of the effectiveness of various methods of biopsy of the lung and hilar lymph nodes in sarcoidosis. *Al'manakh klinicheskoi meditsiny* [Almanac of clinical medicine], 2011, no. 25, pp. 41–47 (in Russian).
56. Kiter G., Müsellim B., Cetinkaya E., Türker H., Kunt Uzaslan A. E., Yentürk E. [et al.]. Clinical presentations and diagnostic work-up in sarcoidosis: a series of Turkish cases (clinics and diagnosis of sarcoidosis). *Tuberk Toraks*, 2011, vol. 59, no. 3, pp. 248–258. <https://doi.org/10.5578/tt.2495>
57. Judson M. A. The diagnosis of sarcoidosis. *Clinics in Chest Medicine*, 2008, vol. 29, no. 3, pp. 415–427. <https://doi.org/10.1016/j.ccm.2008.03.009>
58. Koontz C. H., Joyner L. R., Netson R. A. Transbronchoscopic lung biopsy via the fiberoptic bronchoscope in sarcoidosis. *Annals of Internal Medicine*, 1976, vol. 85, no. 1, pp. 64–66. <https://doi.org/10.7326/0003-4819-85-1-64>
59. Roette R. A., Fuller Ph. B., Byrd R. B., Hafermann D. R. Transbronchoscopic lung biopsy in sarcoidosis. Optimal number and sites for diagnosis. *Chest*, 1980, vol. 77, no. 3, pp. 400–402. <https://doi.org/10.1378/chest.77.3.400>
60. Wells A. U., Hirani N. Interstitial lung disease guideline: the British Thoracic Society in collaboration with the Thoracic Society of Australia and New Zealand and the Irish Thoracic Society. *Thorax*, 2008, vol. 63, suppl. 5, pp. vi–v58. <https://doi.org/10.1136/thx.2008.101691>
61. Mikhaylova L. P. Immunomorphology of granulomatous inflammation in sarcoidosis, experimental tuberculosis and the use of immunomodulators. Abstract of Ph. D. diss. Moscow, 2006. 48 p. (in Russian).
62. Goncharova E. V. Clinical and morphological comparisons in granulomatous lung diseases. Abstract of Ph. D. diss. Moscow, 1998. 24 p. (in Russian).
63. Kichigina O. N. Clinical, morphological and immunohistochemical features of various variants of lung sarcoidosis. Abstract of Ph. D. diss. Moscow, 2012. 25 p. (in Russian).

### Информация об авторах

Суркова Лариса Константиновна – д-р мед. наук, профессор, заведующий отделом. Республиканский научно-практический центр пульмонологии и фтизиатрии (Долгиновский тракт, 157, 220053, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: niipulm@tut.by

Бородина Галина Львовна – канд. мед. наук, доцент, заведующий кафедрой. Белорусский государственный медицинский университет (пр. Дзержинского, 83, 220116, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: niipulm@tut.by

Шпаковская Наталья Савельевна – канд. биол. наук, вед. науч. сотрудник. Республиканский научно-практический центр пульмонологии и фтизиатрии (Долгиновский тракт, 157, 220053, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: niipulm@tut.by

### Information about the authors

Larisa K. Surkova – D. Sc. (Med.), Professor, Head of the Department. Republican Scientific and Practical Center for Pulmonology and Tuberculosis (157, Dolginovski Tract, 220053, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: niipulm@tut.by

Galina L. Borodina – Ph. D. (Med.), Assistant Professor, Head of the Department. Belarusian State Medical University (83, Dzerzhinski Ave., 220116, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: niipulm@tut.by

Natalya S. Shpakovskaya – Ph. D. (Biol.), Leading researcher. Republican Scientific and Practical Center for Pulmonology and Tuberculosis (157, Dolginovski Tract, 220053, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: niipulm@tut.by

ISSN 1814-6023 (Print)

ISSN 2524-2350 (Online)

УДК 616.89-008.444.4:376/]-053/2

<https://doi.org/10.29235/1814-6023-2019-16-4-499-512>

Поступила в редакцию 22.11.2018

Received 22.11.2018

**О. Е. Полулях<sup>1</sup>, Т. А. Митюкова<sup>1</sup>, А. И. Мартыненко<sup>2</sup>,  
О. Ю. Захаревич<sup>2</sup>, С. А. Марчук<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>*Институт физиологии НАН Беларуси, Минск, Республика Беларусь*

<sup>2</sup>*Республиканский научно-практический центр психического здоровья, Минск, Республика Беларусь*

## **РАЗВИТИЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЙ О ДЕТСКОМ АУТИЗМЕ: ПАТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ И МАРКЕРЫ**

**Аннотация.** Актуальность изучения расстройств аутистического спектра обусловлена высокой распространенностью, ростом частоты встречаемости, а также отсутствием единой концепции их этиологии и патогенеза. В работе приведены краткие сведения по истории развития представлений о детском аутизме, включая вопросы патогенеза и поиска возможных маркеров данного заболевания, начиная с доканнеровского периода и до настоящего времени. Рассматриваются современные теории патогенеза, в частности вопросы наследственности, а также влияния неблагоприятных факторов среды (токсические влияния, воспалительные процессы и иммунные нарушения в организме матери), воздействующих на организм ребенка в период внутриутробного развития. Современные теории патогенеза рассматривают такие процессы как нарушение синаптической передачи, обмена нейротрансмиттеров и нейроспецифических белков, носительство антител к нейротрансмиттерам и нейроспецифическим белкам, митохондриальную дисфункцию, нарастание процессов перекисного окисления, связь с заболеваниями желудочно-кишечного тракта и измененной микрофлорой. Представленные данные свидетельствуют о том, что детский аутизм является полифакторным заболеванием, в связи с чем поиск маркеров должен охватывать широкий спектр параметров, включая генетические, иммунологические, биохимические и, возможно, микробиологические характеристики детского организма.

**Ключевые слова:** этиология и патогенез детского аутизма, генетические аномалии, медиаторы, нейроспецифические белки, аутоиммунные и воспалительные процессы, митохондриальная дисфункция

**Для цитирования:** Развитие представлений о детском аутизме: патогенетические механизмы и маркеры / О. Е. Полулях [и др.] // Вест. Нац. акад. наук Беларусі. Сер. мед. навук. – 2019. – Т. 16, № 4. – С. 499–512. <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2019-16-4-499-512>

**О. Е. Poluliakh<sup>1</sup>, Т. А. Mityukova<sup>1</sup>, А. I. Martynenko<sup>2</sup>, О. Y. Zakharevich<sup>2</sup>, S. A. Marchuk<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>*Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus*

<sup>2</sup>*Republican Research and Practice Centre for Mental Health, Minsk, Republic of Belarus*

## **DEVELOPMENT OF THE CONCEPTS OF CHILDHOOD AUTISM: PATHOGENETIC MECHANISMS AND MARKERS**

**Abstract.** Today, the study of autism spectrum disorders is relevant due to a high prevalence, an increase in the frequency of occurrence, as well as due to a lack of the unified concept of their etiology and pathogenesis. The purpose of the work is to conduct a brief review of evolution of the childhood autism ideas, including the pathogenesis issues and a search for possible markers of this disease. A brief information on the historical development of the childhood autism ideas, from the pre-Kanner period until now is presented. The modern pathogenesis theories are considered, including heredity, as well as the impact of adverse environmental factors on the child's body during prenatal development: toxic effects, inflammatory processes and immune disorders in the mother's body. Modern pathogenesis theories consider such processes as the disruption of synaptic transmission, metabolic disorders of neurotransmitters and neurospecific proteins, the carriage of antibodies to neurotransmitters and neurospecific proteins, the mitochondrial dysfunction, the peroxidation increase, the connection with gastrointestinal tract diseases and altered microflora. The data presented suggest that childhood autism is a multifactorial disease, and a search for markers should then cover a wide range of parameters, including genetic, immunological, biochemical, and possibly microbiological characteristics of the child's body.

**Keywords:** etiology and pathogenesis of childhood autism, genetic abnormalities, mediators, neurospecific proteins, auto-immune and inflammatory processes, mitochondrial dysfunction

**For citation:** Poluliakh O. E., Mityukova T. A., Martynenko A. I., Zakharevich O. Y., Marchuk S. A. Development of the concepts of childhood autism: pathogenetic mechanisms and markers. *Vesti Natsyonal'nai akademii navuk Belarusi. Seriya meditsinskikh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2019, vol. 16, no. 4, pp. 499–512 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2019-16-4-499-512>

В настоящее время аутизм рассматривают как расстройство психоневрологического развития и относят к группе нарушений, называемых расстройствами аутистического спектра ввиду их наиболее частой встречаемости. Основными проявлениями аутизма являются выраженный дефицит социального взаимодействия и общения, стереотипные действия, ограниченные интересы, гипер- и гипочувствительность к сенсорным стимулам, беспокойство, трудности при адаптации к новым условиям, дефицит обучения. Аутизм относится к категории мультисистемных заболеваний, для которых типичны не только психологические нарушения, но и патологические изменения в различных системах и органах. У 70 % детей с заболеваниями аутистического спектра наблюдается умственная отсталость, у 10 % – эпилепсия [1].

По оценкам ВОЗ, 1 из 160 детей в мире страдает расстройствами аутистического спектра. При этом частота их встречаемости среди мальчиков в 2–4 раза выше, чем среди девочек. На сегодняшний день наблюдается рост распространенности расстройств психоневрологического развития. Так, согласно оценкам Центра по контролю и превенции болезней (CDC – centers for disease control and prevention), только с 2002 по 2008 г. частота встречаемости аутизма выросла на 78 % [2]. Что касается Республики Беларусь, то, по данным на 2014 г., заболеваемость расстройствами аутистического спектра составляла 5,07 на 10 000 детского населения, и этот показатель также имеет тенденцию к росту [3].

Цель работы – дать краткий обзор эволюции представлений о детском аутизме, включая вопросы патогенеза и поиска возможных маркеров данного заболевания.

В становлении представлений об аутизме выделяют четыре периода [4]: донозологический, доканнеровский, каннеровский и послеканнеровский. Донозологический период (XIX – начало XX в.) характеризуется несколькими упоминаниями о детях с выраженным стремлением к уходу в одиночество. К самым известным работам того периода относится монография Дж. М. Итара «Дикий мальчик из Аверона». В следующей своей работе «Мутизм, вызванный поражением интеллектуальных функций» (1828 г.) ученый описал разработанные им методы диагностики и коррекции отклонений у таких детей, а также предложил выделить их в отдельную группу, не смешивая с умственной отсталостью и идиотией [5].

Доканнеровский период приходится на 1920–1940-е годы. В это время начали предприниматься попытки системного изучения детского аутизма и впервые появился термин «аутизм». Его ввел швейцарский психиатр Эйген Блейлер в 1928 г. для обозначения особого вида мышления, проявляющегося уходом человека от внешней реальности в мир собственных фантазий (лат. *auto* – сам).

Каннеровский период (1943–1979 гг.) ассоциируется с появлением фундаментальных работ по аутизму Л. Каннера (1943 г.), Г. Аспергера (1944 г.) и других специалистов в этой сфере. Л. Каннер выделил это заболевание в отдельный вид дизонтогенеза. Ему принадлежит первое описание аутизма как синдрома, для которого характерны замкнутость, самоизоляция, уход от контактов с другими людьми, нарушение речевого развития и потребность в многократном повторении одних и тех же действий [6]. Дальнейшие исследования в этой области подтвердили биологическую природу аутизма [7, 8]. Независимо от Л. Каннера в 1944 г. австрийский психиатр Г. Аспергер [9] описал состояние аномального поведения группы подростков, проявляющееся в нарушении общения и коммуникации, которое он назвал «аутистической психопатией». Синдром, описанный Г. Аспергером, отличался от типичного раннего детского аутизма Л. Каннера и акцентировал внимание на способности детей к достаточно высокому интеллектуальному развитию и менее выраженному нарушению коммуникативной речи (его стали называть синдромом Аспергера). Предложенный в 1966 г. синдром Ретта, описывающий раннюю детскую шизофрению [10], также стали относить к аутистическим детским расстройствам. Таким образом, к 1970–1990-м годам сложилось представление о том, что аутистические расстройства составляют гетерогенную по происхождению и отчасти по клиническим проявлениям группу психических нарушений, что нашло отражение и в соответствующих национальных и международных классификациях [11].

Для послеканнеровского периода (начиная с 1980-х годов) характерно рассмотрение аутизма как группы неспецифических синдромов разного происхождения, для которой свойственны три основных нарушения (триада Лоры Винг) [12]:

- качественное ухудшение в сфере социального взаимодействия;
- качественное ухудшение в сфере вербальной и невербальной коммуникации и в сфере воображения;
- крайне ограниченный круг видов активности и интересов.

В соответствии с Международной классификацией болезней 10-го пересмотра ранний детский аутизм был выведен из раздела психозов и отнесен к так называемым общим расстройствам психологического развития (F84) [11]. Несмотря на значительный прогресс в понимании проблемы аутизма, в настоящее время существует множество противоречивых точек зрения относительно причин его возникновения и специфики клинических проявлений.

Принято считать, что симптомы аутизма возникают в результате нарушения развития нервной системы. Условно можно выделить два подхода к этой проблеме [13]. Первый рассматривает аутизм как строго генетическое расстройство, второй представляет аутизм как генетически ассоциированное, но сформировавшееся под влиянием внешней среды заболевание.

Существует концепция, что в основе аутизма лежат аномалии в некоторых функциональных системах мозга. Американские исследователи высказали гипотезу о нарушении функции так называемых зеркальных нейронов [14]. Благодаря им человек может реагировать на действия и эмоции другого человека или подражать кому-то, т. е. осуществлять социальное взаимодействие. Проявления аутизма, как правило, ассоциированы с аномалиями развития мозга, связей нейронов, нарушением баланса возбуждения и торможения, синаптической пластичности [15–18]. Этиология заболевания до сих пор не поддается точному определению и, вероятно, представляет собой комбинацию ряда эндогенных и экзогенных факторов. Многие нейрофизиологические исследования сосредоточены на роли аномальной корковой возбудимости и нарушенной нейропластичности в патогенезе аутизма [17, 18]. Следует отметить, что большинство генов-кандидатов, связанных с аутизмом, играют определенную роль в развитии нейропластичности [18, 19]. При изучении экспериментальных моделей аутизма на животных, а также в ходе наблюдения за становлением языковых и социальных навыков у детей-аутистов выявлены аномальные механизмы пластичности [20–23]. По результатам современных исследований, проведенных на животных, модуляции нейрональной активности в медиальной префронтальной коре мышей приводят к аутизм-подобному поведению [24].

Наследственная предрасположенность занимает одно из ведущих мест среди факторов риска развития аутизма. Эпидемиологические исследования показали, что риск развития аутизма у братьев и сестер аутичного ребенка составляет около 3 %, что примерно в 50 раз выше, чем уровень заболеваемости в общей популяции населения [25], а у сиблингов данное расстройство встречается в 50–200 раз чаще. Установлено также, что большинство родителей детей, страдающих аутизмом, имеют нарушения исполнительных функций, что проявляется слабыми навыками планирования и переключаемости внимания. Кроме того, обнаружено, что у монозиготных близнецов определяется гораздо более высокий процент конкордантности по расстройствам аутистического спектра, чем у дизиготных (0–27 % у дизиготных и 36–96 % у монозиготных). Все эти данные указывают на генетическую основу развития аутизма. Однако, несмотря на это, выявление универсальных генетических нарушений, приводящих к аутистическому фенотипу, оказалось крайне затруднительным. Наследование аутизма является многофакторным, и предрасположенность к нему может быть связана одновременно со многими генами, взаимовлияющими друг на друга. За последние годы было идентифицировано более 200 генов-кандидатов и несколько сотен хромосомных аномалий (геномных перестроек) при аутизме (табл. 1) [1].

Т а б л и ц а 1. Возможные хромосомные аномалии у детей с аутизмом

Table 1. Possible chromosomal abnormalities in children with autism

Геномные вариации	Частота	Хромосомы (участки хромосом)
<i>Межиндивидуальные геномные вариации</i>		
Вариации числа копий последовательностей ДНК (CNV)	10–20 %	Наиболее часто встречающиеся делеции и дупликации 22q11.2, 1q21.1, 16p11.2; дупликации 15q11q13
Субмикроскопические хромосомные аномалии	11,6 %	2p, 2q, 3p, 3q, 5q, 7p, 7q, 8q, 10p, 11p, 12p, 13q, 14q, 15q, 16p, 16q, 17p, 18q, 19q, 20p, 20q, 21q, 22q и Xp
Структурные хромосомные аномалии	2–5 %	Практически все хромосомы, но с разной частотой
<i>Межклеточные (соматические) геномные вариации</i>		
Мозаичные структурные хромосомные аномалии	Единичные случаи	3q3q, 4p, 12p и 20p, реже – другие участки
Ломкие сайты хромосом	Единичные случаи	1–5, 7, 9–11, 16 и X

Среди генетических нарушений преобладают хромосомные аномалии, включая микроабберрации и вариации числа копий последовательностей ДНК – CNVs (CNV – copy number variations). Наиболее частыми структурными хромосомными аномалиями являются делеции, дупликации и дополнительные изохромосомы, образовавшиеся при перестройках участка 15q11.2-q13. Причем проявления аутизма зависят от родительского происхождения перестройки, например наблюдаются дупликации в 15q11-13 регионе хромосомы, полученной от матери. Это дает основания полагать, что эпигенетический феномен геномного импринтинга также играет роль в патогенезе аутизма. Участки 16p11.2 и 22q11-13 тоже часто вовлекаются в дупликации и делеции при аутизме [26, 27]. Однако перестройки в 16p11.2 могут наблюдаться и при других нарушениях психики [27]. С вариациями CNV связано до 10 % спорадических и 2 % семейных случаев РАС, возникающих *de novo*, т. е. представляющих собой новые мутации, вызвавшие аутизм у ребенка, но отсутствующие у родителей. [13]. К часто встречающимся хромосомным аномалиям относят также изменения последовательностей ДНК длинных плеч хромосом 7 и 16 (7q и 16q) [28].

Многие пациенты с аутизмом имели отклонения в метаболизме металлов [29]. Данные нарушения были связаны с изменением функции белка металлотионеина (МТ), который играет важную роль в поддержании гомеостаза цинка и меди, оказывает существенное влияние на развитие и функционирование иммунной системы, участвует в развитии нейронов мозга, эмоциональной сферы и социализации.

В настоящее время выделяют гены четырех подсемейств металлотионеина: МТ-1 и МТ-2, которые экспрессируются в различных органах и тканях, МТ-3 и МТ-4, экспрессия которых преобладает в головном мозге и в базальном слое эпителия соответственно. У человека все эти гены расположены на хромосоме 16 [30]. Показано, что МТ-3 индуцируется в мозге в ответ на окислительный стресс [31].

Полученные в результате молекулярно-генетического исследования и проведения клинко-генетического сопоставления данные указывают на взаимосвязь гена белка МТ-3 с частотой развития аутизма у детей в возрасте от 2 до 14 лет. У 79 % обследованных детей с аутизмом отмечались мутации в гене, кодирующем белок МТ-3. Из них 61,7 % детей с аутизмом имели генотип G/C (гетерозиготная мутация), а 17,3 % – генотип C/C (гомозиготная мутация). Причем при гомозиготной мутации у многих детей с РАС отмечались более выраженные нарушения в клинической картине расстройства. Среди пациентов с шизофренией данная мутация была выявлена у 16,4 % обследованных, что достоверно ниже частоты встречаемости данного генетического маркера у детей с аутизмом. Генотип G/C имели 11,5 % пациентов с шизофренией, а генотип C/C – 4,9 %. По степени выраженности клинических проявлений шизофрении между пациентами с гомо- и гетерозиготными мутациями различий не выявлено [32].

В результате большого количества исследований генетических механизмов аутизма обнаружено несколько генов-кандидатов, мутации в которых строго ассоциированы с аутистическими расстройствами. К ним относят патогенные изменения в генах нейрוליгинов, нейрексина и SHANK3, влияющих на синаптическую адгезию и синаптический гомеостаз. Однако эти мутации редкие, на их долю приходится не более 1 % случаев РАС [33].

Разнообразие клинических проявлений аутизма также связано с многообразием олигонуклеотидных полиморфизмов (SNP – single nucleotide polymorphism). Среди SNP, ассоциирующихся с риском развития аутизма, наиболее часто встречаются полиморфизмы генов – ферментов фолатного цикла, в частности метилентетрагидрофолатредуктазы (MTHFR). На сегодняшний день описаны два полиморфизма в гене *MTHFR*, связанные с заменой цитозина на тимин в кодоне 677 (677 C>T) и аденина на цитозин в кодоне 1298 (1298 A > C). Такие замены создают условия для аномально повышенной выработки гомоцистеина, с чем связывают прогрессирование сердечно-сосудистой патологии и наличие нарушений в развитии нервной системы в период внутриутробного развития плода. Кроме того, фолатный цикл характерен для эпигенетического процесса метилирования ДНК. Полиморфизм 677 C > T гена *MTHFR* приводит к снижению активности этого фермента, следствием чего является нарушение метилирования (включения и выключения генов) и запуск многих наследственных и мультифакториальных синдромов [34].

Таким образом, аутизм является клинически и генетически гетерогенным заболеванием. С помощью современных биотехнологий выявлено большое количество разнообразных отклонений в геноме лиц с этим расстройством. Однако ни одно из них не является универсальным для всех случаев аутизма и не может использоваться в качестве маркера.

Несмотря на большой прогресс в изучении генетических основ аутизма, в последнее время все большую популярность приобретает эпигенетическая гипотеза, согласно которой факторы среды способны индуцировать эпигенетические изменения, оказывающие влияние на экспрессию генов. К ним относят метилирование ДНК, модификацию гистонов, ремоделирование хроматина, посттранскрипционное подавление экспрессии генов (РНК-сайленсинг) и др. Согласно результатам анализа сотен статей по проблемам аутизма, проведенного Д. Россигнол и Р. Фрай [35], ведущая роль в его развитии отводится иммунным нарушениям и воспалительным процессам. Большая значимость придается также токсическому влиянию среды, оксидативному стрессу, митохондриальной дисфункции и обмену медиаторов в центральной нервной системе.

Согласно модели С. Delakato [36], аномалии синаптических связей между нейронами разных отделов мозга служат первопричиной расстройства восприятия и обработки информации, что может лежать в основе патогенеза аутизма. Такой подход послужил основанием для проведения исследований по изучению аномалий нейротрансмиттеров. На сегодняшний день существует множество доказательств вовлеченности в патогенез аутизма глутамат-, ГАМК- и серотонинергической систем, выявлены изменения в катехоламин- и холинергической системах.

Центральное место в регуляции когнитивных функций занимает глутамат. В мозжечке и гиппокампе концентрируется основная часть глутаматных рецепторов. Именно эти отделы мозга подвергаются поражению при аутизме [37]. Глутамат является возбуждающим медиатором, стимулирует рост и дифференцировку клеток. Данные относительно содержания глутамата в сыворотке крови пациентов с аутизмом достаточно противоречивы. В большинстве работ указывается на его повышение [38], однако в ряде работ приводятся противоположные данные [39]. Экспериментальная блокада глутаматергической системы у мышей приводит к появлению у них симптомов аутизма [37]. С другой стороны, при избытке глутамата проявляется его токсическое действие [40].

Аномалии в системе ГАМК при аутизме были впервые выявлены G. J. Blatt [41] методом ауторадиографии. Так, было обнаружено, что плотность и распределение рецепторов ГАМК в гиппокампе значительно снижена. В другом исследовании установлено, что нокаун *GABRB3* (гена рецептора ГАМК у мышей) вызывает у них симптомы, свойственные аутизму: судороги, дефицит памяти и обучения, повторяющиеся действия, гиперактивность, гиперчувствительность к внешним раздражителям [42]. Определение с помощью протонной магниторезонансной спектроскопии концентрации ГАМК в головном мозге детей с аутизмом выявило ее снижение в лобной коре [43]. В нескольких исследованиях отмечалось снижение количества ГАМК-ергических рецепторов [44], а также 50 %-ное снижение активности ферментов, синтезирующих ГАМК [45]. ГАМК является важнейшим тормозным нейромедиатором центральной нервной системы, дефицит которого может вносить свою лепту в патогенез аутизма.

Среди дисфункций нейротрансмиттеров наиболее часто отмечается повышенное содержание серотонина в тромбоцитах периферической крови у пациентов с расстройствами аутистического спектра [46]. Серотонин играет важную роль в лимбической системе мозга, осуществляя контроль эмоционально-мотивационного поведения, управляет процессами сна и бодрствования, регулирует клеточную пролиферацию, апоптоз и дифференциацию, синаптогенез нейронов, созревание префронтального кортекса. Серотонинергические структуры мозга оказывают тормозное действие, снижая эмоции агрессии и страха. В крови серотонин содержится в основном в тромбоцитах, накапливающих его с помощью серотонинового транспортера (SERT), который осуществляет обратный захват этого нейромедиатора. У аутистов часто выявляются редкие варианты гена SERT (*SLC6A4*), в частности аллель Ala56. С ее наследованием связан усиленный обратный захват серотонина тромбоцитами. Результатом этого является ингибирование серотонинергической нейротрансмиссии, что приводит к гиперактивности, антисоциальному поведению и агрессии. Поскольку в головном мозге содержится только 5 % от общего количества серотонина, а остальное количество продуцирует желудочно-кишечный тракт (ЖКТ), то генетические мутации, влияющие на активность серотонина, оказывают влияние как на головной мозг, так и на кишечник. Этим можно объяснить снижение перистальтики кишечника и частые запоры, которые, как правило, сопутствуют аутизму.

Важную роль в синтезе серотонина играет витамин D. Он регулирует гены ферментов триптофангидроксилазы 2 (ТРН2) и триптофангидроксилазы 1 (ТРН1), отвечающих за превращение триптофана в серотонин. ТРН2 экспрессируется в мозге, а ТРН1 – преимущественно в периферических органах, в том числе в кишечнике. Действие витамина D на них разнонаправленное: ТРН2 активируется, а ТРН1, напротив, подавляется. Таким образом, дефицит витамина D может привести к недостаточ-

ному синтезу серотонина в мозге и повышению его содержания в кишечнике [47]. Еще одной его важной функцией является модуляция синтеза окситоцина – гормона, играющего важную роль в социальном поведении человека. Результаты исследований сыворотки крови детей с аутизмом указывают на снижение содержания у них витамина D и окситоцина [47].

Серотонин является предшественником мелатонина. Пик его продукции в эпифизе приходится на ночное время. У пациентов с аутизмом наблюдается снижение уровня мелатонина в моче, слюне и сыворотке крови. Нарушением метаболизма мелатонина объясняют распространенные при аутизме нарушения сна – дисомнии и парасомнии.

Модуляторами нервной и гуморальной регуляции являются также катехоламины (дофамин, норадреналин, адреналин). Дофамин стимулирует внимание, память, эмоциональное вознаграждение при приеме пищи, игре и др. Норадреналин контролирует мотивированное поведение, запоминание, мобилизацию интеллектуальной и эмоциональной деятельности, образное мышление, интеллектуальное поведение. Предшественником для синтеза катехоламинов является аминокислота тирозин. В литературе описаны неоднозначные изменения содержания тирозина, катехоламинов и их метаболитов при аутизме: их повышение, снижение или отсутствие сдвигов [48]. Данные позитронно-эмиссионной томографии свидетельствуют о нарушениях обмена дофамина и гиперчувствительность дофаминовых рецепторов в структурах мозга детей с аутизмом. Обнаружены мутации генов, ответственных за синтез транспортера дофамина (DAT1) и синтез D4-рецептора [49].

Нарушения в холинергической системе мозга характеризуются снижением активности мускариновых и никотиновых рецепторов. При посмертном изучении биоптатов мозга людей с аутизмом обнаружено снижение экспрессии  $\alpha 4\beta 2$  никотиновых холинорецепторов [50].

В современных исследованиях большое внимание уделяется изучению нейротрофических белков, обеспечивающих функции нейронов. BDNF (brain-derived neurotrophic factor) активно экспрессируется в различных отделах головного мозга человека, включая гиппокамп, и играет важнейшую роль в регуляции роста аксонов и дендритов и высвобождении нейротрансмиттеров. Развитие и выживание нейронов целого ряда областей головного мозга напрямую зависит от активации BDNF-рецепторов из группы тирозинкиназ – TrkB. Низкие уровни циркулирующего BDNF ассоциированы с широким спектром патологических состояний нервной системы, включая депрессию, шизофрению, нейродегенеративные заболевания и др. [51]. Результаты исследования BDNF при аутизме противоречивы, так как одни авторы указывают на повышение уровня BDNF в сыворотке крови детей с аутизмом, а другие, напротив, свидетельствуют о снижении его содержания [50, 52].

Среди нейротрофических факторов, определяющих нарушения развития нервной системы при аутизме, выделяют также фактор роста нервов (ФРН) [53]. Он представляет собой нейропептид, обуславливающий выживание зрелых нейронов и контроль направленного роста, ветвления нервных окончаний в процессе эмбрионального и раннего постнатального развития. Его концентрация в сыворотке и спинномозговой жидкости повышается при многих патологических состояниях в мозге: при ишемии, гипоксии, травмах, синдроме внутричерепной гипертензии, гидроцефалии. Согласно данным N. Dincel [55], при аутизме уровень ФРН в периферической крови детей также увеличивается.

Изменения в иммунной системе при аутизме отмечались давно. В их числе сниженная активность естественных киллеров, пониженный уровень лимфоцитов определенных типов, повышенный уровень цитокинов, связанных с воспалительными процессами в центральной нервной системе, пониженный уровень противовоспалительных цитокинов. Наличие хронического воспаления и активация клеток микроглии обнаруживаются в посмертных биоптатах мозга людей с аутизмом [55]. К факторам, увеличивающим риск активации микроглии мозга, относятся различные травмы мозга, дисфункция гематоэнцефалического барьера, активные формы кислорода. Гематоэнцефалический барьер может повреждаться вследствие активации оксидативных процессов, острой стрессовой ситуации, повышенного уровня гомоцистеина, диабета и гипергликемии [56]. В результате цитокины приобретают способность проникать через гематоэнцефалический барьер и инициировать процесс воспаления. Таким образом, они могут служить маркерами иммунной дисрегуляции, которая осложняет течение аутизма. У детей с аутизмом обнаружены измененные профили цитокинов [57]. Содержание провоспалительных цитокинов, белков системы комплемента, молекул адгезии, хемокинов и факторов роста коррелирует со степенью выраженности симптомов. Изменения TGF-beta, CCL2, CCL5, уровней циркулирующих иммуноглобулинов классов M и G связаны с ухудшением показателей поведенческих тестов. Кроме того, обнаружено нарушение соотношения хелперов первого и второго типов (Th1/Th2), что также может играть роль в патогенезе аутизма.

Достаточно часто при аутизме отмечается повышенный уровень неопертина в моче и белка S100b в сыворотке крови [58]. Неопертин является маркером иммунной дисфункции и активации иммунной системы. Его повышение происходит за счет выделения реактивных форм кислорода, поэтому он может рассматриваться как показатель степени оксидативного стресса, вызванного активацией работы иммунной системы. Белок S100b, продуцируемый главным образом астроцитами, является биомаркером повреждения ткани мозга.

Результаты современных исследований свидетельствуют о наличии в мозге специфического белка програнулина, который играет важную роль в выживании клеток головного мозга. Програнулин представляет собой нейротрофин, обладающий противовоспалительным действием, а кроме того, он является ростовым фактором, вовлеченным в процессы регенерации тканей [59]. Локальное введение рекомбинантного програнулина в эксперименте на мышах ингибирует воспалительные реакции в мозге и способствует восстановлению поврежденных нервных клеток [59, 60]. Согласно данным AL-Ayadhi, L. Y. [61], его концентрация снижена в сыворотке крови детей с аутизмом.

Разные исследовательские группы пришли к заключению, что у пациентов с аутизмом по сравнению с лицами без этого диагноза в сыворотке крови повышен уровень антител к тканям и белкам центральной нервной системы: тканям мозжечка, таламуса, гипоталамуса, лимбической системы, серотониновым рецепторам, белкам нейроглии, нейронам [62]. Показано, что уровни некоторых из них коррелируют со степенью тяжести заболевания, а дети с наличием антител к ткани мозжечка имеют наиболее сниженные адаптивные и когнитивные функции по сравнению с теми, у кого их нет. Патологическая роль в развитии аутизма отводится также иммуноглобулинам, специфичным к следующим антигенам: белку нервных волокон NAFP (NAFP – neuron-axon filament protein), глиальному фибриллярному кислому протеину (GFAP – glial fibrillary acidic protein), эндотелиальным клеткам мозга, основному белку миелина и миелин-ассоциированному гликопротеину. Обнаружено повышение антител к нейротрофическому фактору мозга (BDNF) [58].

В работах А. Б. Полетаева с соавт. [63] обоснованы представления о том, что стойкие нарушения в работе лимфоидной системы, ассоциированной с ЖКТ, приводят к снижению иммунологической толерантности к пищевым антигенам, следствием чего является повышение продукции провоспалительных цитокинов и аутоантител, что может лежать в основе иммуновоспалительных процессов и поведенческих расстройств у детей с аутизмом. Наряду с этим авторы рассматривают и другие патогенетические механизмы. Аномальные пики иммунореактивности к нейроспецифическим белкам характерны для различных психоневрологических заболеваний (включая аутизм), при которых наблюдаются нейродегенеративные изменения, нейроинфекции, нарушения функций нейромышечных контактов, когнитивные нарушения, нарушения баланса процессов возбуждения и торможения, эмоционально-мотивационной сферы и болевой чувствительности. Например, нарушенное восприятие боли, характерное для детей с аутизмом, сопровождается аномально высокими титрами антител к опиатным рецепторам и рецепторам к эндорфину. Показано, что выраженная аутоиммунизация наблюдается не только у детей с аутизмом, но и у их матерей [63]. Авторы считают, что у взрослых женщин небольшие изменения в сывороточном содержании нейротропных антител могут играть преимущественно защитную, адаптивную роль. В то же время трансплацентарное поступление таких антител к плоду может стать фактором риска возникновения патологии нервной системы ввиду отсутствия сформированных механизмов компенсации и защиты. В табл. 2 представлен перечень аутоантител, выявляемых в сыворотке крови у пациентов с аутизмом и их матерей методом ЭЛИ-Н-Тест «Иммункулюс» (Москва, Россия) [63].

На сегодняшний день накоплено немало данных, свидетельствующих о том, что появлению аутистической симптоматики у ребенка могут способствовать материнские антитела, способные проникать через незрелый гематоэнцефалический барьер плода и действовать на его формирующуюся центральную нервную систему [58]. Предполагается, что это приводит к нарушению развития его нервной системы, длительной нейродегенерации, а в дальнейшем – к поведенческим и когнитивным расстройствам. Проведенные исследования подтвердили наличие связи между перенесенной вирусной или бактериальной инфекцией у беременных и повышенным риском развития аутизма у их потомства [64]. Помимо выработки антител материнский иммунный ответ на инфекцию проявляется выработкой цитокинов, которые также оказывают влияние на нейрогенез плода, миграцию нейронов и синаптическую пластичность. Повышенные уровни сывороточных IFN- $\gamma$ , IL-4 и IL-5 чаще встречались у женщин, впоследствии родивших детей с расстройствами аутистического спектра.

Т а б л и ц а 2. Аномалии профилей иммунореактивности у детей-аутистов и их матерей  
 Table 2. Anomalies in the immunoreactivity profiles in autistic children and their mothers

Антитела (АТ)	Частота встречаемости, %	
	Дети с аутизмом	Матери
АТ к опиатным $\mu$ -рецепторам или к $\beta$ -эндорфину	88	84
АТ к S100b	54	28
АТ к NF-200	34	18
АТ к серотониновым рецепторам	32	28
АТ к основному белку миелина	28	14
АТ к GFAP	26	28
АТ к вольтаж-зависимому Ca-каналу	16	12
АТ к ГАМК-рецепторам	14	16
АТ к дофаминовым рецепторам	10	36
АТ к N-холинорецептору (мозгоспецифическая изоформа)	6	4
АТ к глутаматным (NMDA) рецепторам	4	24

Как упоминалось выше [63], достаточно распространенным явлением при аутистических расстройствах является наличие воспалительных процессов в ЖКТ. Воспаление в кишечнике приводит к увеличению проницаемости его стенок (синдром «дырявой кишки»), что в свою очередь вызывает микробный дисбаланс и запускает воспалительные и аутоиммунные процессы. Достаточно часто при аутизме выявляют наличие антител к белкам плотных контактов, липополисахариду, актомиозину, кальпротектину и лактоферрину. При наблюдаемом у 25,6 % детей с аутизмом дисбактериозе [58] отмечается особый состав бактериальной флоры кишечника, не свойственный здоровым детям, а именно: наличие патогенных бактерий, таких как *Suterella Wadsworthensis* и *Clostridium boltae*. Ввиду существования так называемой кишечно-мозговой оси – двусторонней коммуникации мозга и кишечника – кишечная микрофлора может взаимодействовать с центральной нервной системой посредством иммунных, гуморальных и нервных механизмов, а следовательно, способна влиять на поведение и когнитивные функции [61]. Нормализация кишечной флоры, по некоторым данным, облегчает симптомы аутизма. Однако точный механизм этого облегчения остается пока невыясненным.

Помимо иммунных нарушений и воспалительных процессов достаточно распространенным явлением среди детей с аутизмом является наличие у них митохондриальной дисфункции [58]. Она проявляется нарушением процесса выработки энергии, необходимой для нормальной жизнедеятельности организма. При этом в первую очередь страдают наиболее энергозависимые ткани и органы, к числу которых относится центральная нервная система. В 80 % случаев митохондриальная дисфункция является приобретенной, а не унаследованной. Факторами, приводящими к ее появлению, могут быть инфекционные и воспалительные процессы, оксидативный стресс, воздействие токсических веществ, тяжелых металлов, пестицидов, дефицит витамина B<sub>6</sub>, железа и др. Кроме того, митохондриальная дисфункция может являться следствием приема некоторых лекарственных средств: вальпроевой кислоты, нейролептиков, парацетамола, некоторых антидепрессантов [65]. Предположение о наличии связи между аутизмом и митохондриальной дисфункцией обосновывается общностью симптомов этих расстройств. Для них характерны когнитивные нарушения, отставание в речевом развитии, патология ЖКТ, судороги и гипотония, снижение эффективности детоксикации организма и др. С помощью магниторезонансной спектроскопии определено содержание ряда метаболитов, характеризующих энергетический обмен клетки (фосфокреатина, АТФ, АДФ и неорганических фосфатов) в мозге пациентов с аутизмом. Выявленное снижение фосфокреатина указывает на увеличение его расхода с целью поддержки необходимого уровня АТФ. Также отмечено, что изменения фосфокреатина коррелируют со степенью речевых нарушений и нейрофизиологических проблем [66]. Факт снижения клеточной энергетики и запаса энергии в митохондриях у некоторых пациентов с аутизмом подтвержден исследованиями Д. Россигнол и др. [67, 68].

Неспособность митохондрий нейтрализовать активные формы кислорода и свободные радикалы ведет к оксидативному стрессу. Внутренняя мембрана митохондрий содержит большое количество антиоксидантов: глутатион, витамины С и Е, антиоксидантные ферменты. У детей с аутизмом часто выявляются сдвиги, свидетельствующие о нарушении антиоксидантной защиты [66]. К таким сдвигам

относят пониженное содержание восстановленной формы глутатиона по сравнению с его окисленной формой, низкие уровни активности супероксиддисмутазы, глутатион-пероксидазы, антиоксидантных транспортных белков (трансферрина и церулоплазмينا), нарушение гомоцистеин-метионинового метаболизма. Наиболее чувствительным показателем оксидативного стресса в организме является F2t-изопростан – маркер окисления липидов. Его содержание повышено у детей с аутизмом, особенно если заболевание сопровождается дисфункцией ЖКТ. Количество антиоксидантов, выводимых с мочой, часто снижено, причем это коррелирует со степенью выраженности симптомов [58].

Активные формы кислорода способны оказывать в том числе и генотоксическое действие. Индуцируя одно- и двунитевые разрывы ДНК, они нарушают целостность и стабильность генома. Уровень поврежденности ДНК у детей с аутизмом значительно выше, чем у их здоровых сверстников [68]. Есть мнение, что оксидативный стресс вносит вклад в развитие клинических проявлений при аутизме. Установлена связь между степенью снижения уровней трансферрина и церулоплазмينا в сыворотке крови детей с аутизмом и потерей ими ранее приобретенных речевых навыков [69]. Кроме того, низкое содержание этих белков в организме вызывает нарушение метаболизма железа и меди, что часто обнаруживается при аутизме. Имеются и гендерные различия в активности АОЗ. Так, у мужчин отмечаются более низкие уровни восстановленного глутатиона и активности антиоксидантных ферментов (супероксиддисмутазы, глутатионпероксидазы, каталазы), поэтому у мужчин митохондрии значительно чувствительнее к оксидативному стрессу, чем у женщин [66]. Полагают, что именно действием оксидативного стресса обусловлена повышенная встречаемость аутистических расстройств у мальчиков по сравнению с девочками.

**Заключение.** Таким образом, аутизм представляет собой сложное психоневрологическое расстройство, характеризующееся наличием патологических изменений в разных системах и органах, а также гетерогенностью симптоматики. Несмотря на большое количество информации, накопленной по этой проблеме на сегодняшний день, до сих пор не существует единой теории этиологии и патогенеза аутизма. Актуальной является проблема поиска надежных и доступных биологических маркеров. Согласно современным данным, наиболее перспективным считается поиск комбинаций таких биомаркеров, которые позволили бы наиболее полно охарактеризовать патологические процессы при аутизме, определить состояние пациента, а также подобрать оптимальное лечение и мониторировать его эффективность в дальнейшем.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

### Список использованных источников

1. Молекулярная генетика и геномика аутизма: науч.-практ. аспекты / С. Г. Ворсанова [и др.] // Наук. журн. МОЗ України. – 2014. – № 2. – С. 91–105.
2. Шендеров, Б. А. «ОМИК»-технологии и их значение в современной профилактической и восстановительной медицине / Б. А. Шендеров // Вестн. восстанов. медицины. – 2012. – № 3. – С. 70–78.
3. Докукина, Т. В. Клинико-эпидемиологические характеристики расстройств аутистического спектра в Республике Беларусь / Т. В. Докукина, С. А. Марчук // Вестн. Совета мол. ученых и специалистов Челябинской области. – 2016. – Т. 3, № 2. – С. 51–55.
4. Башина, В. М. О синдроме раннего детского аутизма Каннера / В. М. Башина // Журн. невропатол. и психиатрии. – 1974. – Т. 74, № 10. – С. 1538–1542.
5. Мальтинская, Н. А. История развития учения об аутизме / Н. А. Мальтинская // Концепт [Электронный ресурс]. – 2017. – № S11. – Режим доступа : <https://e-koncept.ru/2017/470137.htm>. – Дата доступа : 03.10.2018.
6. Kanner, L. Autistic disturbances of affective contact / L. Kanner // Nerv. Child. – 1943. – N 2. – P. 217–250.
7. Binder, A. Modern therapies / A. Binder, B. Rimland, V. Binder. – Upper Saddle River : Prentice Hall, 1976. – 230 p.
8. Schopler, E. Psychopathology and child development: research and treatment / E. Schopler, R. Reichler. – New York : Plenum Press, 1976. – 394 p.
9. Asperger, H. Die “Autistischen Psychopathen” im Kindesalter / H. Asperger // Archiv für Psychiatrie und Nervenkrankheiten. – 1944. – Bd. 117, N 1. – S. 76–136. <https://doi.org/10.1007/BF01837709>
10. Rett, A. On a unusual brain atrophy syndrome in hyperammonemia in childhood / A. Rett // Wiener Medizinische Wochenschrift. – 1966. – Vol. 116, N 37. – P. 723–726.
11. The ICD-10 Classification of Mental and Behavioural Disorders: Clinical Descriptions and Diagnostic Guidelines / World Health Organization. – Geneva : World Health Organization, 1992. – 362 p.
12. Wing, L. Childhood autism and social class: a question of selection? / L. Wing // Brit. J. Psychiatry. – 1980. – Vol. 137. – P. 410–417.
13. Безгодова, А. А. Этиопатогенез расстройств аутистического спектра: современные аспекты проблемы / А. А. Безгодова, М. В. Злоказова // Вятск. мед. вестн. – 2015. – № 2. – С. 25–28.

14. Oberman, L. M. The simulating social mind: The role of the mirror neuron system and simulation in the social and communicative deficits of autism spectrum disorders / L. M. Oberman, V. S. Ramachandran // *Psychol. Bull.* – 2007. – Vol. 133, N 2. – P. 310–327. <https://doi.org/10.1037/0033-2909.133.2.310>
15. Unusual brain growth patterns in early life in patients with autistic disorder: an MRI study / E. Courchesne [et al.] // *Neurology.* – 2001. – Vol. 57, N 2. – P. 245–254. <https://doi.org/10.1212/wnl.57.2.245>
16. Geschwind, D. H. Autism spectrum disorders: developmental disconnection syndromes / D. H. Geschwind, P. Levitt // *Curr. Opin. Neurobiol.* – 2007. – Vol. 17, N 1. – P. 103–111. <https://doi.org/10.1016/j.conb.2007.01.009>
17. Rubenstein, J. L. Model of autism: increased ratio of excitation/inhibition in key neural systems / J. L. Rubenstein, M. M. Merzenich // *Genes, Brain, Behavior.* – 2003. – Vol. 2, N 5. – P. 255–267. <https://doi.org/10.1034/j.1601-183x.2003.00037.x>
18. Dölen, G. Fragile x syndrome and autism: from disease model to therapeutic targets / G. Dölen, M. F. Bear // *J. Neurodevelopmental Disorders.* – 2009. – Vol. 1, N 2. – P. 133–140. <https://doi.org/10.1007/s11689-009-9015-x>
19. Brain-derived neurotrophic factor enhances long-term potentiation in rat visual cortex / Y. Akaneya [et al.] // *J. Neurosci.* – 1997. – Vol. 17, N 17. – P. 6707–6716. <https://doi.org/10.1523/jneurosci.17-17-06707.1997>
20. Animal models relevant to schizophrenia and autism: validity and limitations / S. Tordjman [et al.] // *Behavior Genetics.* – 2007. – Vol. 37, N 1. – P. 61–78. <https://doi.org/10.1007/s10519-006-9120-5>
21. Reduced cortical activity due to a shift in the balance between excitation and inhibition in a mouse model of Rett syndrome / V. S. Dani [et al.] // *Proceed. Nat. Acad. Sci.* – 2005. – Vol. 102, N 35. – P. 12560–12565. <https://doi.org/10.1073/pnas.0506071102>
22. Common circuit defect of excitatory/inhibitory balance in mouse models of autism / N. Gogolla [et al.] // *J. Neurodevelopmental Disorders.* – 2009. – Vol. 1, N 2. – P. 172–181. <https://doi.org/10.1007/s11689-009-9023-x>
23. Huttenlocher, P. R. Neural plasticity / P. R. Huttenlocher. – 18th ed. – Cambridge : Harvard Univ. Press, 2002. – 313 p.
24. Neocortical excitation/inhibition balance in information processing and social dysfunction / O. Yizhar [et al.] // *Nature.* – 2011. – Vol. 477, N 7363. – P. 171–178. <https://doi.org/10.1038/nature10360>
25. Филиппова, Н. В. Генетические факторы в этиопатогенезе расстройств аутистического спектра / Н. В. Филиппова, Ю. Б. Барыльник // *Соц. и клин. психиатрия.* – 2014. – Т. 24, № 1. – С. 96–100.
26. A *de novo* 1p34.2 microdeletion identifies the synaptic vesicle gene RIMS3 as a candidate for autism / R. A. Kumar [et al.] // *J. Med. Genet.* – 2010. – Vol. 47, N 2. – P. 81–90. <https://doi.org/10.1136/jmg.2008.065821>
27. Phenotypic spectrum associated with *de novo* and inherited deletions and duplications at 16p11.2 in individuals ascertained for diagnosis of autism spectrum disorder / B. A. Fernandez [et al.] // *J. Med. Genet.* – 2010. – Vol. 47, N 3. – P. 195–203. <https://doi.org/10.1136/jmg.2009.069369>
28. Further characterization of the autism susceptibility locus AUTS1 on chromosome 7q / International Molecular Genetic Study of Autism Consortium // *Hum. Mol. Genet.* – 2001. – Vol. 10, N 9. – P. 973–982. <https://doi.org/10.1093/hmg/10.9.973>
29. Atlas Mental Health Resources in the World, 2001 / World Health Organization. – Geneva : WHO, 2001. – 60 p.
30. Characterization of DNA sequences through which cadmium and glucocorticoid hormones induce human metallothionein-IIa gene / M. Karin [et al.] // *Nature.* – 1984. – Vol. 308, N 5959. – P. 513–519. <https://doi.org/10.1038/308513a0>
31. Leibbrandt, M. E. Activation of human monocytes with lipopolysaccharide induces metallothionein expression and is diminished by zinc / M. E. Leibbrandt, J. Koropatnick // *Toxicol. Appl. Pharmacol.* – 1994. – Vol. 124, N 1. – P. 72–81. <https://doi.org/10.1006/taap.1994.1010>
32. Расстройства аутистического спектра у детей (клиника, диагностика, коррекция) / С. А. Марчук [и др.]. – Мозырь : Выснова, 2018. – 127 с.
33. Морозов, С. А. Аутизм – 2012: достижения науки и перспективы практики / С. А. Морозов // *Сиб. вестн. спец. образования.* – 2012. – Т. 6, № 2. – С. 1–18.
34. Гречанина, Е. Я. Аутизм. Генетические и эпигенетические проблемы / Е. Я. Гречанина // *Наук. журн. МОЗ України.* – 2013. – № 2. – С. 29–48.
35. Rossignol, D. A. A review of research trends in physiological abnormalities in autism spectrum disorders: immune dysregulation, inflammation, oxidative stress, mitochondrial dysfunction and environmental toxicant exposures / D. A. Rossignol, R. E. Frye // *Mol. Psychiatry.* – 2012. – Vol. 17, N 4. – P. 389–401. <https://doi.org/10.1038/mp.2011.165>
36. Delacato, C. The Ultimate Stranger: The autistic child / C. Delacato. – Dallas : Knopf Doubleday Publ. Group, 1974. – 226 p.
37. Мустафаева, Э. Ш. Аномалии нейротрансмиттеров при развитии детского аутизма / Э. Ш. Мустафаева, К. Д. Малый // *Синергия наук.* – 2018. – № 21. – С. 226–231.
38. Rubenstein, J. L. Model of autism: increased ratio of excitation/inhibition in key neural systems / J. L. Rubenstein, M. M. Merzenich // *Genes Brain Behav.* – 2003. – Vol. 2, N 5. – P. 255–267. <https://doi.org/10.1034/j.1601-183x.2003.00037.x>
39. Carlsson, M. L. Hypothesis: is infantile autism a hypoglutamatergic disorder? Relevance of glutamate – serotonin interactions for pharmacotherapy / M. L. Carlsson // *J. Neural Transm.* – 1998. – Vol. 105, N 4. – P. 525–535. <https://doi.org/10.1007/s007020050076>
40. Исследования иммунитета у детей, страдающих ранним детским аутизмом / А. С. Горина [и др.] // *Мед. иммунология.* – 2004. – Т. 6, № 1–2. – С. 143–146.
41. Density and distribution of hippocampal neurotransmitter receptors in autism: an autoradiographic study / G. J. Blatt [et al.] // *J. Autism Dev. Disord.* – 2001. – Vol. 31, N 6. – P. 537–543. <https://doi.org/10.1023/A:1013238809666>

42. Autism and abnormal development of brain connectivity / M. K. Belmonte [et al.] // *J. Neurosci.* – 2004. – Vol. 24, N 42. – P. 9228–9231. <https://doi.org/10.1523/jneurosci.3340-04.2004>
43. Non-invasive evaluation of the GABAergic/glutamatergic system in autistic patients observed by MEGA-editing proton MR spectroscopy using a clinical 3 tesla instrument / M. Harada [et al.] // *J. Autism Dev. Disord.* – 2011. – Vol. 41, N 4. – P. 447–454. <https://doi.org/10.1007/s10803-010-1065-0>
44. Expression of GABA(B) receptors is altered in brains of subjects with autism / S. H. Fatemi [et al.] // *Cerebellum.* – 2009. – Vol. 8, N 1. – P. 64–69. <https://doi.org/10.1007/s12311-008-0075-3>
45. Glutamic acid decarboxylase 65 and 67 kDa proteins are reduced in autistic parietal and cerebellar cortices / S. H. Fatemi [et al.] // *Biol. Psychiatry.* – 2002. – Vol. 52, N 8. – P. 805–810. [https://doi.org/10.1016/s0006-3223\(02\)01430-0](https://doi.org/10.1016/s0006-3223(02)01430-0)
46. Perspective biological markers for autism spectrum disorders: advantages of the use of receiver operating characteristic curves in evaluating marker sensitivity and specificity / P. M. Abruzzo [et al.] // *Dis. Markers.* – 2015. – Vol. 2015. – P. 1–15. <https://doi.org/10.1155/2015/329607>
47. Patrick, R. P. Vitamin D and the omega-3 fatty acids control serotonin synthesis and action, part 2: relevance for ADHD, bipolar disorder, schizophrenia, and impulsive behavior / R. P. Patrick, B. N. Ames // *FASEB J.* – 2015. – Vol. 29, N 6. – P. 2207–2222. <https://doi.org/10.1096/fj.14-268342>
48. Горина, А. С. Катехоламины и их метаболиты у детей с синдромом Каннера / А. С. Горина, Л. С. Колесниченко // *Сиб. мед. журн.* – 2011. – Т. 100, № 1. – С. 73–76.
49. Циркин, В. И. Роль дофамина в деятельности мозга (обзор литературы) / В. И. Циркин, В. И. Багаев, Б. Н. Бейн // *Вятск. мед. вестн.* – 2010. – № 1. – С. 7–18.
50. Ratajczak, H. Theoretical aspects of autism: biomarkers – a review / H. V. Ratajczak // *J. Immunotoxicol.* – 2011. – Vol. 8, N 1. – P. 80–94. <https://doi.org/10.3109/1547691x.2010.538749>
51. Возможности применения нейротрофического фактора головного мозга в качестве маркера эффективности терапии при дегенеративном, травматическом и ишемическом поражении головного мозга / В. В. Рославцева [и др.] // *Неврол. журн.* – 2015. – Т. 20, № 2. – С. 38–46.
52. Serum neurotrophin concentrations in autism and mental retardation: a pilot study / K. Miyazaki [et al.] // *Brain Dev.* – 2004. – Vol. 26, N 5. – P. 292–295. [https://doi.org/10.1016/s0387-7604\(03\)00168-2](https://doi.org/10.1016/s0387-7604(03)00168-2)
53. Козловская, Г. В. Аутоантитела к фактору роста нервов у детей с различными формами психического дизонтогенеза и из группы высокого риска по шизофрении / Г. В. Козловская, Т. П. Клюшник // *Журн. неврологии и психиатрии.* – 2000. – Т. 100, № 3. – С. 50–52.
54. Das, U. N. Nutritional factors in the pathobiology of autism / U. N. Das // *Nutrition.* – 2013. – Vol. 29, N 7–8. – P. 1066–1069. <https://doi.org/10.1016/j.nut.2012.11.013>
55. Serum nerve growth factor levels in autistic children in Turkish population: a preliminary study / N. Dinçel [et al.] // *Ind. J. Med. Res.* – 2013. – Vol. 138, N 6. – P. 900–903.
56. Neuroglial activation and neuroinflammation in the brain of patients with autism / D. L. Vargas [et al.] // *Ann. Neurol.* – 2005. – Vol. 57, N 1. – P. 67–81. <https://doi.org/10.1002/ana.20315>
57. Streit, W. J. Microglial response to brain injury: a brief synopsis / W. J. Streit // *Toxicol. Pathol.* – 2000. – Vol. 28, N 1. – P. 28–30. <https://doi.org/10.1177/019262330002800104>
58. Elevated plasma cytokines in autism spectrum disorders provide evidence of immune dysfunction and are associated with impaired behavioral outcome / P. Ashwood [et al.] // *Brain Behav. Immun.* – 2011. – Vol. 25, N 1. – P. 40–45. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2010.08.003>
59. Biomarkers in autism / A. A. S. Goldani [et al.] // *Front. Psychiatry.* – 2014. – Vol. 5. – Art. 100. <https://doi.org/10.3389/fpsy.2014.00100>
60. Early retinal neurodegeneration and impaired Ran-mediated nuclear import of TDP-43 in progranulin-deficient FTLD / M. E. Ward [et al.] // *J. Exp. Med.* – 2014. – Vol. 211, N 10. – P. 1937–1945. <https://doi.org/10.1084/jem.20140214>
61. AL-Ayadhi, L. Y. Low plasma progranulin levels in children with autism / L. Y. AL-Ayadhi, G. A. Mostafa // *J. Neuroinflamm.* – 2011. – Vol. 8, N 1. – Art. 111. <https://doi.org/10.1186/1742-2094-8-111>
62. Виноградова, К. Н. Этиология расстройств аутистического спектра / К. Н. Виноградова // *Совр. заруб. психология.* – 2014. – Т. 3, № 4. – С. 112–131.
63. Полетаев, А. Б. Про пьяного и потерянные ключи / А. Б. Полетаев // *Клин. патофизиология.* – 2017. – Т. 23, № 3. – С. 3–13.
64. Полетаев, А. Б. Изменения в опийной системе у детей, страдающих аутизмом. Возможные причины и следствия / А. Б. Полетаев, А. А. Полетаева, А. В. Хмельницкая // *Клин. патофизиология.* – 2016. – Т. 22, № 1. – С. 48–54.
65. Maternal infection requiring hospitalization during pregnancy and autism spectrum disorders / H. Ó. Atladóttir [et al.] // *J. Autism Dev. Disord.* – 2010. – Vol. 40, N 12. – P. 1423–1430. <https://doi.org/10.1007/s10803-010-1006-y>
66. Neuroleptic treatment effect on mitochondrial electron transport chain: peripheral blood mononuclear cells analysis in psychotic patients / J. Casademont [et al.] // *J. Clin. Psychopharmacol.* – 2007. – Vol. 27, N 3. – P. 284–288. <https://doi.org/10.1097/jcp.0b013e318054753e>
67. Rossignol, D. A. Evidence of mitochondrial dysfunction in autism and implications for treatment / D. A. Rossignol, J. J. Bradstreet // *Am. J. Biochem. Biotech.* – 2008. – Vol. 4, N 2. – P. 208–217. <https://doi.org/10.3844/ajbbsp.2008.208.217>
68. Rossignol, D. A. Mitochondrial dysfunction in autism spectrum disorders: a systematic review and meta-analysis / D. A. Rossignol, R. E. Frye // *Mol. Psychiatry.* – 2012. – Vol. 17, N 3. – P. 290–314. <https://doi.org/10.1038/mp.2010.136>
69. Материнский эффект при детском аутизме: повышенный уровень повреждений ДНК у пациентов и их матерей / Л. Н. Пороховник [и др.] // *Биомед. химия.* – 2016. – Т. 62, № 4. – С. 466–470.

## References

1. Vorsanova S. G., Yurov Yu. B., Demidova I. A., Yurov I. Yu. Molecular genetics and genomics of autism: scientific and practical aspects. *Naukovii zhurnal MOZ Ukraini = Scientific journal of the Ministry of Health of Ukraine*, 2014, no. 2, pp. 91–105 (in Russian).
2. Shenderov B. A. “OMIK” technology and their importance in modern preventive and restorative. *Vestnik Vosstanovitel'noi meditsiny = Journal of regenerative medicine*, 2012, no. 3, pp. 70–78 (in Russian).
3. Dokukina T. V., Marchuk S. A. Clinical and epidemiological characteristics of autism spectrum disorders in the Republic of Belarus. *Vestnik Soveta molodykh uchenykh i spetsialistov Chelyabinskoi oblasti* [Bulletin of the Council of young scientists and specialists of the Chelyabinsk Region], 2016, vol. 3, no. 2, pp. 51–55 (in Russian).
4. Bashina V. M. About the Kanner syndrome of early childhood autism. *Zhurnal nevropatologii i psikiatrii* [Journal of neuropathology and psychiatry], 1974, vol. 10, pp. 1538–1542 (in Russian).
5. Mal'tinskaya N. A. The history of the development of the theory of autism. *Concept*, 2017, no. S11 (in Russian). Available at: <https://e-koncept.ru/2017/470137.htm> (accessed 03.10.2018) (in Russian).
6. Kanner L. Autistic disturbances of affective contact. *Nervous Child*, 1943, no. 2, pp. 217–250.
7. Binder A., Rimland B., Binder V. *Modern therapies*. Upper Saddle River, Prentice Hall Publ., 1976. 230 p.
8. Schopler E., Reichler R. *Psychopathology and child development: research and treatment*. New York, Plenum Press, 1976. 394 p.
9. Asperger H. Die “Autistischen Psychopathen” im Kindesalter. *Archiv für Psychiatrie und Nervenkrankheiten*, 1944, vol. 117, Bd. 1, S. 76–136. <https://doi.org/10.1007/BF01837709>
10. Rett A. On a unusual brain atrophy syndrome in hyperammonemia in childhood. *Wiener Medizinische Wochenschrift*, 1966, vol. 116, no. 37, pp. 723–726.
11. *The ICD-10 Classification of Mental and Behavioural Disorders: Clinical Descriptions and Diagnostic Guidelines*. Geneva, World Health Organization, 1992. 362 p.
12. Wing L. Childhood autism and social class: a question of selection? *British Journal of Psychiatry*, 1980, vol. 137, pp. 410–417.
13. Bezgodova A. A., Zlokazova M. V. Etiopathogenesis of autism spectrum disorders: modern aspects of the problem. *Vyatskii meditsinskii vestnik* [Vyatka medical journal], 2015, no. 2, pp. 25–28 (in Russian).
14. Oberman L. M., Ramachandran V. S. The simulating social mind: the role of the mirror neuron system and simulation in the social and communicative deficits of autism spectrum disorders. *Psychological Bulletin*, 2007, vol. 133, no. 2, pp. 310–327. <https://doi.org/10.1037/0033-2909.133.2.310>
15. Courchesne E., Karns C., Davis H., Ziccardi R., Carper R., Tigue Z. [et al.]. Unusual brain growth patterns in early life in patients with autistic disorder: an MRI study. *Neurology*, 2001, vol. 57, no. 2, pp. 245–254. <https://doi.org/10.1212/wnl.57.2.245>
16. Geschwind D. H., Levitt P. Autism spectrum disorders: developmental disconnection syndromes. *Current Opinion in Neurobiology*, 2007, vol. 17, no. 1, pp. 103–111. <https://doi.org/10.1016/j.conb.2007.01.009>
17. Rubenstein J. L., Merzenich M. M. Model of autism: increased ratio of excitation/inhibition in key neural. *Genes, Brain, and Behavior*, 2003, vol. 2, no. 5, pp. 255–267. <https://doi.org/10.1034/j.1601-183x.2003.00037.x>
18. Dölen G., Bear M. F. Fragile x syndrome and autism: from disease model to therapeutic targets. *Journal of Neurodevelopmental Disorders*, 2009, vol. 1, no. 2, pp. 133–140. <https://doi.org/10.1007/s11689-009-9015-x>
19. Akaneya Y., Tsumoto T., Kinoshita S., Hatanaka H. Brain-derived neurotrophic factor enhances long-term potentiation in rat visual cortex. *Journal of Neuroscience*, 1997, vol. 17, no. 17, pp. 6707–6716. <https://doi.org/10.1523/jneurosci.17-17-06707.1997>
20. Tordjman S., Drapier D., Bonnot O., Graignic R., Fortes S., Cohen D., Millet B., Laurent C., Roubertoux P. L. Animal models relevant to schizophrenia and autism: validity and limitations. *Behavior Genetics*, 2007, vol. 37, no. 1, pp. 61–78. <https://doi.org/10.1007/s10519-006-9120-5>
21. Dani V. S., Chang Q., Maffei A., Turrigiano G. G., Jaenisch R., Nelson S. B. Reduced cortical activity due to a shift in the balance between excitation and inhibition in a mouse model of Rett syndrome. *Proceedings of the National Academy of Science*, 2005, vol. 102, no. 35, pp. 12560–12565. <https://doi.org/10.1073/pnas.0506071102>
22. Gogolla N., LeBlanc J. J., Quast K. B., Südhof T. C., Fagiolini M., Hensch T. K. Common circuit defect of excitatory/inhibitory balance in mouse models of autism. *Journal of Neurodevelopmental Disorders*, 2009, vol. 1, no. 2, pp. 172–181. <https://doi.org/10.1007/s11689-009-9023-x>
23. Huttenlocher P. R. *Neural plasticity*. Cambridge, Harvard University Press, 2002. 313 p.
24. Yizhar O., Fenno L. E., Prigge M., Schneider F., Davidson T. J., O’Shea D. J. [et al.]. Neocortical excitation/inhibition balance in information processing and social dysfunction. *Nature*, 2011, vol. 477, no. 7363, pp. 171–178. <https://doi.org/10.1038/nature10360>
25. Filippova N. V., Baryl’nik Yu. B. Genetic factors in the etiopathogenesis of autism spectrum disorders. *Sotsial’naya i klinicheskaya psikiatriya* [Social and clinical psychiatry], 2014, vol. 24, no. 1, pp. 96–100 (in Russian).
26. Kumar R. A., Sudi J., Babatz T. D., Brune C. W., Oswald D., Yen M., Nowak N. J., Cook E. H., Christian S. L., Dobyns W. B. A *de novo* 1p34.2 microdeletion identifies the synaptic vesicle gene RIMS3 as a candidate for autism. *Journal of Medical Genetics*, 2010, vol. 47, no. 2, pp. 81–90. <https://doi.org/10.1136/jmg.2008.065821>
27. Fernandez B. A., Roberts W., Chung B., Weksberg R., Meyn S., Szatmari P. [et al.] Phenotypic spectrum associated with *de novo* and inherited deletions and duplications at 16p11.2 in individuals ascertained for diagnosis of autism spectrum disorder. *Journal of Medical Genetics*, 2010, vol. 47, no. 3, pp. 195–203. <https://doi.org/10.1136/jmg.2009.069369>

28. International Molecular Genetic Study of Autism Consortium. Further characterization of the autism susceptibility locus AUTS1 on chromosome 7q. *Human Molecular Genetics*, 2001, vol. 10, no. 9, pp. 973–982. <https://doi.org/10.1093/hmg/10.9.973>
29. *Atlas Mental Health Resources in the World, 2001*. Geneva, World Health Organization, 2001. 60 p.
30. Karin M., Haslinger A., Holtgreve H., Richards R. I., Krauter P., Westphal H. M., Beato M. Characterization of DNA sequences through which cadmium and glucocorticoid hormones induce human metallothionein-IIa gene. *Nature*, 1984, vol. 308, no. 5959, pp. 513–519. <https://doi.org/10.1038/308513a0>
31. Leibbrandt M. E., Koropatnick J. Activation of human monocytes with lipopolysaccharide induces metallothionein expression and is diminished by zinc. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 1994, vol. 124, no. 1, pp. 72–81. <https://doi.org/10.1006/taap.1994.1010>
32. Marchuk S. A., Dokukina T. V., Grigor'eva N. K., Alyko T. N., Golubeva T. S., Grigor'eva I. V., Greben' S. A., Zakharevich O. Yu. *Disorders of autism spectrum in children (clinic, diagnosis, correction)*. Mozyr, Vysnova Publ., 2018. 127 p. (in Russian).
33. Morozov S. A. Autism – 2012: science achievements and prospects for practice. *Sibirskii vestnik spetsial'nogo obrazovaniya* [Siberian bulletin of special education], 2012, vol. 6, no. 2, pp. 1–18 (in Russian).
34. Grechanina E. Ya. Autism. Genetic and epigenetic problems. *Naukovii zhurnal MOZ Ukraini = Scientific journal of the Ministry of Health of Ukraine*, 2013, no. 2, pp. 29–48 (in Russian).
35. Rossignol D. A., Frye R. E. A review of research trends in physiological abnormalities in autism spectrum disorders: immune dysregulation, inflammation, oxidative stress, mitochondrial dysfunction and environmental toxicant exposures. *Molecular Psychiatry*, 2012, vol. 17, no. 4, pp. 389–401. <https://doi.org/10.1038/mp.2011.165>
36. Delacato C. *The Ultimate stranger: the autistic child*. Dallas, Knopf Doubleday Publishing Group, 1974. 226 p.
37. Mustafaeva E. Sh., Malyi K. D. Anomalies of neurotransmitters in the development of child autism. *Sinergiya nauk* [Synergy of sciences], 2018, no. 21, pp. 226–231 (in Russian).
38. Rubenstein J. L., Merzenich M. M. Model of autism: increased ratio of excitation/inhibition in key neural systems. *Genes, Brain and Behavior*, 2003, vol. 2, no. 5, pp. 255–267. <https://doi.org/10.1034/j.1601-183x.2003.00037.x>
39. Carlsson M. L. Hypothesis: is infantile autism a hypoglutamatergic disorder? Relevance of glutamate – serotonin interactions for pharmacotherapy. *Journal of Neural Transmission*, 1998, vol. 105, no. 4, pp. 525–535. <https://doi.org/10.1007/s007020050076>
40. Gorina A. S., Kolesnikova L. I., Kozlova L. S., Mikhnovich V. I., Polyakov V. M., Rupyshev A. V. Studies of immunity in children suffering from early childhood autism. *Meditinskaya immunologiya* [Medical immunology], 2004, vol. 6, no. 1–2, p. 143–146 (in Russian).
41. Blatt G. J., Fitzgerald C. M., Guptill J. T., Booker A. B., Kemper T. L., Bauman M. L. Density and distribution of hippocampal neurotransmitter receptors in autism: an autoradiographic study. *Journal of Autism and Developmental Disorders*, 2001, vol. 31, no. 6, pp. 537–543. <https://doi.org/10.1023/A:1013238809666>
42. Belmonte M. K., Allen G., Beckel-Mitchener A., Boulanger L. M., Carper R. A., Webb S. J. Autism and abnormal development of brain connectivity. *Journal of Neuroscience*, 2004, vol. 24, no. 42, pp. 9228–9231. <https://doi.org/10.1523/jneurosci.3340-04.2004>
43. Harada M., Taki M. M., Nose A., Kubo H., Mori K., Nishitani H., Matsuda T. Non-invasive evaluation of the GABAergic/glutamatergic system in autistic patients observed by MEGA-editing proton MR spectroscopy using a clinical 3 tesla instrument. *Journal of Autism and Developmental Disorders*, 2011, vol. 41, no. 4, pp. 447–454. <https://doi.org/10.1007/s10803-010-1065-0>
44. Fatemi S. H., Folsom T. D., Reutiman T. J., Thuras P. D. Expression of GABA(B) receptors is altered in brains of subjects with autism. *Cerebellum*, 2009, vol. 8, no. 1, pp. 64–69. <https://doi.org/10.1007/s12311-008-0075-3>
45. Fatemi S. H., Halt A. R., Stary J. M., Kanodia R., Schulz S. C., Realmuto G. R. Glutamic acid decarboxylase 65 and 67 kDa proteins are reduced in autistic parietal and cerebellar cortices. *Biological Psychiatry*, 2002, vol. 52, no. 8, pp. 805–810. [https://doi.org/10.1016/s0006-3223\(02\)01430-0](https://doi.org/10.1016/s0006-3223(02)01430-0)
46. Abruzzo P. M., Ghezzi A., Bolotta A., Ferreri C., Minguzzi R., Vignini A., Visconti P., Marini M. Perspective biological markers for autism spectrum disorders: advantages of the use of receiver operating characteristic curves in evaluating marker sensitivity and specificity. *Disease Markers*, 2015, vol. 2015, pp. 1–15. <https://doi.org/10.1155/2015/329607>
47. Patrick R. P., Ames B. N. Vitamin D and the omega-3 fatty acids control serotonin synthesis and action, part 2: relevance for ADHD, bipolar disorder, schizophrenia, and impulsive behavior. *FASEB Journal*, 2015, vol. 29, no. 6, pp. 2207–2222. <https://doi.org/10.1096/fj.14-268342>
48. Gorina A. S., Kolesnichenko L. S. Catecholamines and their metabolites in children with Kanner syndrome. *Sibirskii meditsinskii zhurnal* [Siberian medical journal], 2011, vol. 100, no. 1, pp. 73–76 (in Russian).
49. Tsirkin V. I., Bagaev V. I., Bein B. N. The role of dopamine in brain activity (literature review). *Vyatskii meditsinskii zhurnal* [Vyatka medical journal], 2010, no. 1, pp. 7–18 (in Russian).
50. Ratajczak H. Theoretical aspects of autism: biomarkers – a review. *Journal of Immunotoxicology*, 2011, vol. 8, no. 1, pp. 80–94. <https://doi.org/10.3109/1547691x.2010.538749>
51. Roslavtseva V. V., Salmina A. B., Prokopenko S. V., Kobanenko I. V., Rezvitskaya G. G. The opportunity of brain neurotrophic factor use as a marker of effective treatment in degenerative, traumatic and ischemic damage of brain. *Nevrologicheskii zhurnal = Neurological journal*, 2015, vol. 20, no. 2, pp. 38–46 (in Russian).
52. Miyazaki K., Narita N., Sakuta R., Miyahara T., Naruse H., Okado N., Narita M. Serum neurotrophin concentrations in autism and mental retardation: a pilot study. *Brain and Development*, 2004, vol. 26, no. 5, pp. 292–295. [https://doi.org/10.1016/s0387-7604\(03\)00168-2](https://doi.org/10.1016/s0387-7604(03)00168-2)

53. Kozlovskaya G. V., Klyushnik T. P., Goryunova A. V., Turkova I. L., Kalinina M. A., Sergienko N. S. Autoantibodies to nerve growth factor in children with various forms of mental dysontogenesis and from a high risk group for schizophrenia. *Zhurnal nevrologii i psikiatrii* [Journal of neurology and psychiatry], 2000, vol. 100, no. 3, pp. 50–52 (in Russian).

54. Das U. N. Nutritional factors in the pathobiology of autism. *Nutrition*, 2013, vol. 29, no. 7–8, pp. 1066–1069. <https://doi.org/10.1016/j.nut.2012.11.013>

55. Dinçel N., Ünalp A., Kutlu A., Öztürk A., Uran N., Ulusoy S. Serum nerve growth factor levels in autistic children in Turkish population: a preliminary study. *Indian Journal of Medical Research*, 2013, vol. 138, no. 6, pp. 900–903.

56. Vargas D. L., Nascimbene C., Krishnan C., Zimmerman A. W., Pardo C. A. Neuroglial activation and neuroinflammation in the brain of patients with autism. *Annals of Neurology*, 2005, vol. 57, no. 1, pp. 67–81. <https://doi.org/10.1002/ana.20315>

57. Streit W. J. Microglial response to brain injury: a brief synopsis. *Toxicologic Pathology*, 2000, vol. 28, no. 1, pp. 28–30. <https://doi.org/10.1177/019262330002800104>

58. Ashwood P., Krakowiak P., Hertz-Picciotto I., Hansen R., Pessah I., van de Water J. Elevated plasma cytokines in autism spectrum disorders provide evidence of immune dysfunction and are associated with impaired behavioral outcome. *Brain, Behavior and Immunity*, 2011, vol. 25, no. 1, pp. 40–45. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2010.08.003>

59. Goldani A. A. S., Downs S. R., Widjaja F., Lawton B., Hendren R. L. Biomarkers in autism. *Frontiers in Psychiatry*, 2014, vol. 5, art. 100. <https://doi.org/10.3389/fpsy.2014.00100>

60. Ward M. E., Taubes A., Chen R., Miller B. L., Sephton C. F., Gelfand J. M. [et al.] Early retinal neurodegeneration and impaired Ran-mediated nuclear import of TDP-43 in progranulin-deficient FTLD. *Journal of Experimental Medicine*, 2014, vol. 211, no. 10, pp. 1937–1945. <https://doi.org/10.1084/jem.20140214>

61. AL-Ayadhi, L. Y., Mostafa G. A. Low plasma progranulin levels in children with autism. *Journal of Neuroinflammation*, 2011, vol. 8, no. 1, art. 111. <https://doi.org/10.1186/1742-2094-8-111>

62. Vinogradova K. N. Etiology of autism spectrum disorders. *Sovremennaya zarubezhnaya psikhologiya* [Modern foreign psychology], 2014, vol. 3, no. 4, pp. 112–131 (in Russian).

63. Poletaev A. B. About drunk and lost keys. *Klinicheskaya patofiziologiya* [Clinical pathophysiology], 2017, vol. 23, no. 3, pp. 3–13 (in Russian).

64. Poletaye A. B., Poletaeva A. A., Khmel'nitskaya A. V. Changes in the opiate system in children with autism. Possible causes and consequences. *Klinicheskaya patofiziologiya* [Clinical pathophysiology], 2016, vol. 22, no. 1, pp. 48–54 (in Russian).

65. Atladóttir H. Ó., Thorsen P., Østergaard L., Schendel D. E., Lemcke S., Abdallah M., Parner E. T. Maternal infection requiring hospitalization during pregnancy and autism spectrum disorders. *Journal of Autism and Developmental Disorders*, 2010, vol. 40, no. 12, pp. 1423–1430. <https://doi.org/10.1007/s10803-010-1006-y>

66. Casademont J., Garrabou G., Miró Ò., López S., Pons A., Bernardo M., Cardellach F. Neuroleptic treatment effect on mitochondrial electron transport chain: peripheral blood mononuclear cells analysis in psychotic patients. *Journal of Clinical Psychopharmacology*, 2007, vol. 27, no. 3, pp. 284–288. <https://doi.org/10.1097/jcp.0b013e318054753e>

67. Rossignol D. A., Bradstreet J. J. Evidence of mitochondrial dysfunction in autism and implications for treatment. *American Journal of Biochemistry and Biotechnology*, 2008, vol. 4, no. 2, pp. 208–217. <https://doi.org/10.3844/ajbb.2008.208.217>

68. Rossignol D. A., Frye R. E. Mitochondrial dysfunction in autism spectrum disorders: a systematic review and meta-analysis. *Molecular Psychiatry*, 2012, vol. 17, no. 3, pp. 290–314. <https://doi.org/10.1038/mp.2010.136>

69. Porokhovnik L. N., Kostyuk S. V., Ershova E. S., Stukalov S. M., Veiko N. N., Korovina N. Yu., Gorbachevskaya N. L., Sorokin A. B., Lyapunova N. A. The maternal effect in infantile autism: elevated DNA damage degree in patients and their mothers. *Biochemistry (Moscow) Supplement. Series B: Biomedical Chemistry*, 2016, vol. 10, no. 4, pp. 322–326.

## Информация об авторах

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

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

Мартыненко Александр Ильич – мл. науч. сотрудник. РНПЦ психического здоровья (Долгиновский тракт, 152, 220053, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: m.a.y.alexandr@gmail.com

Захаревиц Ольга Юрьевна – науч. сотрудник. РНПЦ психического здоровья (Долгиновский тракт, 152, 220053, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: oz1989@list.ru

Марчук Сергей Александрович – науч. сотрудник. РНПЦ психического здоровья (Долгиновский тракт, 152, 220053, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: mar4ellini@ya.ru

## Information about the authors

Olga E. Poluliakh – 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

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

Alexandr I. Martynenko – Junior researcher. Republican research and practice centre for mental health (152, Dolginovski trakt, 220053, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: m.a.y.alexandr@gmail.com

Olga Y. Zakharevich – Researcher. Republican research and practice centre for mental health (152, Dolginovski trakt, 220053, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: oz1989@list.ru

Sergej A. Marchuk – Researcher. Republican research and practice centre for mental health (152, Dolginovski trakt, 220053, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: mar4ellini@ya.ru