

# ВЕСЦІ

## НАЦЫЯНАЛЬнай АКАДЭМІІ НАВУК БЕЛАРУСІ

---

СЕРЫЯ МЕДЫЦЫНСКІХ НАВУК. 2020. Том 17, № 1

---

# ИЗВЕСТИЯ

## НАЦИОНАЛЬНОЙ АКАДЕМИИ НАУК БЕЛАРУСИ

---

СЕРИЯ МЕДИЦИНСКИХ НАУК. 2020. Том 17, № 1

---

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.

Журнал входит в Перечень научных изданий Республики Беларусь  
для опубликования результатов диссертационных исследований, включен в базу данных  
Российского индекса научного цитирования (РИНЦ) и в базу данных Scopus

Главный редактор

**Николай Сергеевич Сердюченко** –

Отделение медицинских наук Национальной академии наук Беларуси, Минск, Республика Беларусь

Редакционная коллегия

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

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

Редакционный совет

- Эдуардас Алекнавичиус** – Национальный институт рака, Вильнюс, Литовская Республика  
**Ю. В. Вороненко** – Национальная медицинская академия последипломного образования имени П. Л. Шупика, Киев, Украина  
**Марк М. Ван Гулле** – Университет Лёвена, Лёвен, Королевство Бельгия  
**Драган Дьюрич** – Институт медицинской физиологии Ричарда Бьюриана Университета Белграда, Белград, Республика Сербия  
**Т. П. 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

*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. 2020. Том 17, № 1

*Выходит на русском, белорусском и английском языках*

---

Редактор *В. Г. Колосовская*

Компьютерная верстка *И. В. Счеснюк*

Подписано в печать 12.02.2020. Выход в свет 26.02.2020. Формат 60×84 <sup>1</sup>/<sub>8</sub>. Бумага офсетная.

Печать цифровая. Усл. печ. л. 14,88. Уч.-изд. л. 16,4. Тираж 42 экз. Заказ 30.

Цена номера: индивидуальная подписка – 12,26 руб., ведомственная подписка – 29,23 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, 2020

# PROCEEDINGS

## OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF BELARUS

---

MEDICAL SERIES, 2020, vol. 17, no. 1

---

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

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

### 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 Compounds 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, Re-  
public 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

*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, 2020, vol. 17, no. 1.

*Printed in Russian, Belarusian and English languages*

---

Editor *V. G. Kolosovskaya*  
Computer imposition *I. V. Schasniuk*

It is sent of the press 12.02.2020. Appearance 26.02.2020. 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 30.  
Number price: individual subscription – 12.26 byn., departmental subscription – 29.23 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, 2020

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

## ЗМЕСТ

### КЛІНІЧНАЯ І ЭКСПЕРЫМЕНТАЛЬНАЯ МЕДЫЦЫНА

<b>Мурзич А. Э., Пашкевич Л. А., Жерносеченко А. А.</b> Экспериментальное обоснование способа ауто-трансплантации мезенхимальных стволовых клеток для регенерации костной ткани головки бедра .....	7
<b>Рубникович С. П., Хомич И. С., Денисова Ю. Л.</b> Морфологические изменения костной ткани вокруг ден-талных имплантатов после воздействия низкочастотным ультразвуком низкой интенсивности ( <i>на англ. яз.</i> )....	20
<b>Висмонт Ф. И., Висмонт А. Ф.</b> Формирование «установочного» уровня регуляции температуры тела при эндотоксической лихорадке .....	28
<b>Кабак С. Л., Мельниченко Ю. М., Гордиенок Д. М., Каленчиц Т. И., Гайдель И. К., Юдина О. А.</b> Мио-кардиальные мостики и обструктивный атеросклероз венечных артерий .....	38
<b>Комиссаров К. С.</b> Мультицентровое исследование причин терминальной стадии хронической болезни почек у пациентов, получающих лечение программным гемодиализом в г. Минске .....	49
<b>Астроўская А. Б., Краўчук Р. І., Курбат М. М.</b> Асаблівасці ўльтраструктуры печані пацукоў пры ўздзеянні антырэтравіруснага прэпарата тэнафавіра дзісапраксіл фумарат у спалучэнні з S-адэназілметыянінам .....	55
<b>Якубевіч Р. Э., Бебявскі Н. В., Глазев А. А., Клиса С. Д.</b> Динамика уровней незаменимых аминокислот в плазме крови пациентов с сепсисом на фоне применения методов экстракорпоральной детоксикации .....	64
<b>Манасова Г. С., Диденкул Н. В., Шаповал Н. В., Кузмин Н. В., Короткая К. В.</b> Особенности тактики родоразрешения у беременных с плацентарной дисфункцией с учетом концентрации витамина D .....	70
<b>Войтехович А. С., Васина Е. В., Костюнина В. С., Северин И. Н., Петевка Н. В.</b> Влияние эндотелиаль-ных клеток на эритроидную дифференцировку гемопоэтических стволовых клеток пуповинной крови <i>in vitro</i> .....	78
<b>Гусина А. А., Сталыбко А. С., Криницкая К. А., Иванова В. Ф., Румянцева Н. В., Кулак В. Д., Зубо-ва Т. В., Гусина Н. Б.</b> Мутации в гене <i>FBNI</i> у пациентов с врожденным подвывихом хрусталика при синдроме Марфана .....	87

### АГЛЯДЫ

<b>Семененя И. Н.</b> Психосоматические расстройства: причины, механизмы развития, клинические проявле-ния, возможности аутопсихокоррекции .....	101
<b>Можейко Л. А.</b> Роль дисфункции дуктальной секреции в патогенезе хронического панкреатита .....	122

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

<b>Murzich A. E., Pashkevich L. A., Zhernasechanka H. A.</b> Experimental justification of the method of mesenchymal stem cell autotransplantation for regeneration of the femoral head bone tissue.....	7
<b>Rubnikovich S. P., Khomich I. S., Denisova Yu. L.</b> Morphological changes in the bone tissue around dental implants after low-frequency low-intensity ultrasound applications .....	20
<b>Vismont F. I., Vismont A. F.</b> Formation of the “setting” level of body temperature regulation during endotoxin fever .....	28
<b>Kabak S. L., Melnichenko Y. M., Gordionok D. M., Kalenchic T. I., Haidzel I. K., Yudina O. A.</b> Myocardial bridges and obstructive coronary atherosclerosis.....	38
<b>Komissarov K. S.</b> Multicenter study of the causes of the end stage renal disease in patients on chronic hemodialysis in Minsk.....	49
<b>Astrowskaja A. B., Krauchuk R. I., Kurbat M. M.</b> Features of liver ultrastructure of rat exposed by antiretroviral drug tenofovir disoproxil fumarate in combination with S-adenosylmethionine.....	55
<b>Yakubtsevich R. E., Belyavsky N. V., Glazev A. A., Klisa S. D.</b> Dynamics of essential amino acids plasma levels in patients with sepsis treated by the extracorporeal blood purification methods .....	64
<b>Manasova G. S., Didenkul N. V., Shapoval N. V., Kuzmin N. V., Korotkaya K. V.</b> Features of delivery tactics in pregnant women with placental dysfunction and taking into account the concentration of vitamin D .....	70
<b>Voytehovich A. S., Vasina E. V., Kastsyunina V. S., Seviaryn I. N., Petyovka N. V.</b> Influence of the endothelial cells on the erythroid differentiation of umbilical cord blood hematopoietic stem cells <i>in vitro</i> .....	78
<b>Gusina A. A., Stalybko N. S., Krinitskaya K. A., Ivanova V. F., Rummyantseva N. V., Kulak V. D., Zubova T. V., Gusina N. B.</b> <i>FBNI</i> gene mutations in patients with congenital ectopia lentis caused by Marfan syndrome ....	87

**REVIEWS**

<b>Semenenya I. N.</b> Psychosomatic disorders: causes, development mechanisms, clinical manifestations and feasibility of autopsychocorrection .....	101
<b>Mozheiko L. A.</b> Role of the ductal secretion dysfunction in the pathogenesis of chronic pancreatitis.....	122

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

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

УДК 616.718.41-089.843:616.419-018.4  
<https://doi.org/10.29235/1814-6023-2020-17-1-7-19>

Поступила в редакцию 05.08.2019  
Received 05.08.2019

**А. Э. Мурзич<sup>1</sup>, Л. А. Пашкевич<sup>1</sup>, А. А. Жерносеченко<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Республиканский научно-практический центр травматологии и ортопедии, Минск, Республика Беларусь

<sup>2</sup>Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии,  
д. Боровляны, Минский р-н, Республика Беларусь

**ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ОБОСНОВАНИЕ СПОСОБА АУТОТРАНСПЛАНТАЦИИ  
МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК ДЛЯ РЕГЕНЕРАЦИИ КОСТНОЙ  
ТКАНИ ГОЛОВКИ БЕДРА**

**Аннотация.** Представлены результаты экспериментальной работы по обоснованию нового способа восстановления костной ткани головки бедренной кости с помощью мезенхимальных стволовых клеток (МСК). Проведены оперативные вмешательства на 5 собаках, включающие эксфузию костного мозга, получение МСК и их последующую остеогенную дифференцировку, подбор носителя для МСК, создание дефектов головки бедра, имплантацию клеточного продукта в дефект кости. После операций осуществляли наблюдение и уход за экспериментальными животными, а затем выводили их из эксперимента и производили забор биологического материала. Результаты гистологического исследования микропрепаратов головок бедренных костей собак подтверждают образование зрелой костной ткани компактного строения с остеобластами на месте введения МСК. В экспериментальных образцах контрольной группы (без введения МСК) место дефекта выполнено грубоволокнистой остеобластической тканью без формирования костных структур.

Полученный экспериментальный материал позволит разработать метод аутотрансплантации МСК для регенеративного восстановления поврежденной костной ткани при остеонекрозе головки бедра у взрослых, который будет внедрен в систему практического здравоохранения.

**Ключевые слова:** мезенхимальные стволовые клетки, остеогенная дифференцировка, фибриновый гель, остеонекроз головки бедра, эксперимент

**Для цитирования:** Мурзич, А. Э. Экспериментальное обоснование способа аутотрансплантации мезенхимальных стволовых клеток для регенерации костной ткани головки бедра / А. Э. Мурзич, Л. А. Пашкевич, А. А. Жерносеченко // Вес. Нац. акад. навук Беларусі. Сер. мед. навук. – 2020. – Т. 17, № 1. – С. 7–19. <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2020-17-1-7-19>

**Alyaksandr E. Murzich<sup>1</sup>, Lyudmila A. Pashkevich<sup>1</sup>, Hanna A. Zhernasechanka<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Republican Scientific and Practical Centre of Traumatology and Orthopedics, Minsk, Republic of Belarus

<sup>2</sup>Republican Research Center for Pediatric Oncology, Hematology and Immunology,  
v. Borovliany, Minsk Region, Republic of Belarus

**EXPERIMENTAL JUSTIFICATION OF THE METHOD OF MESENCHYMAL STEM CELL  
AUTOTRANSPLANTATION FOR REGENERATION OF THE FEMORAL HEAD BONE TISSUE**

**Abstract.** The results of experimental justification of a new method for restoring the femoral head bone tissue with the use of mesenchymal stem cells (MSCs) are presented. Surgical interventions were performed on 5 dogs, including the bone marrow exfusion, the obtaining of MSCs and their subsequent osteogenic differentiation, the selection of a carrier for MSCs, the creation of femoral head defects, and the implantation of a cellular product into a bone defect. Experimental animals were observed and cared after operations, and removed from the experiment, as well as the biological material was taken. The histological results of the femoral head micropreparations of dogs confirm the formation of the mature bone tissue of compact structure with osteoblasts at the site of MSCs injection. In the control group of the experimental samples (without MSCs), the defect was made by the fibrous and osteoblastic tissue without the formation of bone structures.

The obtained experimental material will allow us to develop a method for autologous transplantation of MSCs for regenerative restoration of bone tissue damage in the adult's femoral head osteonecrosis, which will find use in the practical healthcare system.

**Keywords:** mesenchymal stem cells, osteogenic differentiation, fibrin gel, femoral head osteonecrosis, experiment

**For citation:** Murzich A. E., Pashkevich L. A., Zhernasechanka H. A. Experimental justification of the method of mesenchymal stem cell autotransplantation for regeneration of the femoral head bone tissue. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seriya meditsinskikh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2020, vol. 17, no. 1, pp. 7–19 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2020-17-1-7-19>

**Введение.** Некроз головки бедренной кости (НГБК) является тяжелой формой патологии тазобедренного сустава с неблагоприятным течением, поскольку встречается, как правило, у лиц молодого возраста (25–44 года), быстро прогрессирует (в большинстве случаев отмечается двухсторонняя локализация процесса) и грозит последующей инвалидизацией. Начавшийся остеонекроз приводит в конечном итоге к коллапсу нагрузочной части головки бедра, разрушению ее хряща, вторичному поражению вертлужной впадины и развитию коксартроза.

Среди методов лечения заболевания на ранних стадиях описаны способы хирургической декомпрессии зоны метаэпифиза бедра, восстановления некроза с помощью костных трансплантатов, костного цемента, деминерализованного костного матрикса, препаратов на основе фосфата кальция [1]. Основанием для применения трансплантации мезенхимальных стволовых клеток (МСК) при остеонекрозе являются данные о снижении числа клеток, предшественников остеоцитов, в интактной части головки бедренной кости, примыкающей к области некроза, которые при экзогенной стимуляции участвуют в восстановлении костной ткани [2].

Источником МСК могут быть различные ткани организма – костный мозг (КМ), жировая ткань, губчатая кость, синовиальная мембрана, скелетная мышца [3]. Тем не менее одними из самых доступных и востребованных в практической медицине остаются МСК, выделенные из КМ, который у взрослого человека содержит 1–2 МСК на  $1 \cdot 10^4$ – $1 \cdot 10^5$  ядродержащих клеток. Стволовая природа этих клеток подтверждается их способностью к самовоспроизведению и дифференцировке, а их высокий пролиферативный потенциал позволяет приумножить популяцию в 1 млн раз [4].

Важным феноменом МСК костномозгового происхождения, делающим эти клетки идеальными для репарации костной и хрящевой тканей, является экспрессия основного конституционного гена коллагена 1-го типа (COL-1) – маркера остеогенной дифференцировки и коллагена 2-го и 10-го типов (COL-2 и COL-10) – маркеров хондрогенной дифференцировки. По данным Р. А. Conget с соавт. [5], только 5–15 % МСК после экспансии *in vitro* являются недифференцированными, в то время как остальные мультипотентные клетки коммитированы в остеогенном, хондрогенном и адипогенном направлении, причем первой теряется способность дифференцироваться в жировые клетки, а потенциал к остео/хондрогенной дифференцировке остается у 60–80 % первичных клонов МСК КМ человека.

МСК КМ обладают следующими преимуществами для использования в качестве стимулятора регенерации костной ткани: доступность источника МСК, высокий пролиферативный потенциал, высокая пластичность клеток с направленностью к дифференцировке в остеогенном направлении; отсутствие иммуногенности, хоуминг МСК к месту повреждения; паракринный эффект МСК [6–8].

Проведенный анализ результатов научных работ по применению МСК для регенерации костной ткани показал, что в клинической практике с этой целью используют недифференцированные МСК костномозгового происхождения. Основанием является то, что МСК КМ, являясь предшественниками остеобластов, после локальной имплантации в зону костного дефекта подвергаются эндогенному воздействию молекул микроокружения, стимулирующих остеогенез [9]. Так, D. Zhao с соавт. [10] доказали безопасность и эффективность введения недифференцированных аутологичных МСК в дозе  $2 \cdot 10^6$  клеток в 2 мл NaCl через декомпрессионный тоннель в область некроза у 50 пациентов с ранней стадией НГБК. Т. Аоуама с соавт. [11] у 9 пациентов с НГБК применил аутологичные МСК в носителе  $\beta$ -трикальцийфосфат в дозе  $(0,5-1,5) \cdot 10^8$  для заполнения зоны некроза после кюретажа. К. Kawate с соавт. [12] на-

блюдали регенерацию костной ткани после имплантации остеогенно дифференцированных МСК на носителе из  $\beta$ -трикальцийфосфата. Однако при анализе этих работ остается спорным вопрос: что же оказало влияние на регенерацию костной ткани – МСК или  $\beta$ -трикальцийфосфат.

Подбор условий для осуществления дифференцировки МСК в остеобласты проводился многими научными группами. Сравнение эффективности остеодифференцировки МСК при различных условиях культивирования, согласно опубликованным материалам исследований, показало, что остеогенный потенциал МСК повышают: определенный уровень кислорода при культивировании (21 %) [13], присутствие в среде эмбриональной телячьей сыворотки (ЭТС), использование в качестве стимуляторов остеодифференцировки дексаметазона,  $\beta$ -глицеролфосфата, аскорбиновой кислоты [14]. Для дифференцировки МСК в остеогенном направлении в качестве фактора иногда используют костный морфогенетический белок BMP (bone morphogenetic protein) [15].

Экспериментальные исследования применения клеточных технологий в ортопедии немногочисленны. А. Lebouvier с соавт. [15] в эксперименте на свиньях показали эффективность разработанного авторами метода лечения НГБК путем инъекции МСК чрескожно внутрикостно в головку бедра. Анализ биораспределения МСК показал заживление костной ткани через 9 недель. Z. Yan с соавт. [16] установили, что трансплантированные МСК могут выживать, размножаться и дифференцироваться непосредственно в остеобласты, что способствует ускоренному процессу восстановления.

Лечение НГБК с использованием клеточных технологий в странах Европы и США является новым направлением современной медицины. Одними из первых его стали применять Р. Hernigou с соавт. (Франция) [17]. Авторы перкутанно вводили концентрат МСК в очаг некроза головки бедра. Их стратегия была обусловлена предположением, что введенные стволовые клетки могут заселить трабекулярную структуру костной ткани, а затем оживить и реконструировать некротическую кость. Другие авторы, из клиники Mayo (США), получили положительные клинические результаты лечения после проведения 73 операций с применением core декомпрессии и концентрата клеток КМ [18].

Несмотря на активно ведущиеся исследования, в настоящее время не существует оптимального протокола получения биотрансплантата МСК для клинического применения с целью регенерации костной ткани, а в доступных печатных источниках отсутствует подробное описание хирургических способов имплантации МСК. В связи с вышеизложенным разработка принципиально иного лечебного подхода с использованием метода аутотрансплантации МСК имеет несомненную научную новизну и практическую значимость. Экспериментальная оценка безопасности и эффективности применения МСК в лечении НГБК является основой для внедрения данной методики в клиническую практику.

Цель исследования – подбор оптимальных условий экспансии и *in vitro* дифференцировки мезенхимальных стволовых клеток костного мозга и оценка эффективности нового метода аутотрансплантации этих клеток для регенеративного восстановления повреждений костной ткани в экспериментах на животных.

**Материалы и методы исследования.** Исследования проведены на основании положительного решения Ученого совета и с разрешения комитета по этике Республиканского научно-практического центра травматологии и ортопедии (РНПЦ ТО). Экспериментальная работа выполнена на базе отдела общей патологии научно-исследовательской лаборатории государственного учреждения «Белорусская медицинская академия последипломного образования» (БелМАПО) в стандартных условиях операционной вивария. Эксперименты проведены на 5 беспородных собаках обоего пола (10 тазобедренных суставов) массой 14,7 [13; 16,3] кг. При проведении экспериментальных исследований руководствовались требованиями, установленными инструкцией ТКП 125-2008 «Надлежащая лабораторная практика», СОП 03 ПО 144-2016, СОП 03 ПУ 160-2016, СанПиН 2.1.2.12-18-2006. Основные этапы эксперимента приведены в табл. 1.

Т а б л и ц а 1. Этапы выполнения эксперимента

T a b l e 1. Experiment stages

Этап	Длительность этапа	Исполнители
Нахождение животных в карантине	2 недели	БелМАПО
Эксфузия костного мозга	1 неделя	БелМАПО, РНПЦ ТО
Выделение МСК из костного мозга, экспансия клеток и их остеодифференцировка, создание композита МСК в системе с носителем	4 недели	РНПЦ ДОГИ
Введение биомедицинского клеточного продукта МСК животным, создание контрольной группы	1–2 недели	БелМАПО, РНПЦ ТО
Наблюдение за животными	3–6 мес.	БелМАПО, РНПЦ ТО
Вывод животных из эксперимента, гистологическое исследование препаратов	2 мес.	БелМАПО, РНПЦ ТО

*Эксфузия костного мозга у экспериментальных животных для получения МСК.* Хирургические вмешательства по забору КМ и по моделированию травмы головки бедренной кости осуществляли под комбинированной анестезией в соответствии с разработанной моделью эксперимента. Пункцию КМ выполняли под наркозом в асептических условиях операционной после бритья животного и обработки операционного поля антисептиками. Обезболивание осуществляли посредством внутримышечного введения раствора кетамина (5 %), смеси фентанила (0,05 %) и дроперидола (0,25 %).

Для эксфузии КМ животное укладывали на бок и фиксировали на операционном столе для больших лабораторных животных. После соответствующей подготовки операционного поля (5 %-ным спиртовым раствором йода) обеспечивали доступ к подвздошной кости. Взятие материала осуществляли в области гребня подвздошной кости.

Пункцию выполняли с использованием шприца и пункционной иглы. Производили прокол кожи, затем вращательными движениями иглы преодолевали кортикальный слой до ощущения провала, после чего аспирировали КМ. Последний вводили в стерильную пробирку Vacu Lab, содержащую Sodium heparin. Полученный КМ транспортировали в Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии (РНПЦ ДОГИ).

*Формирование дефектов костной ткани головки бедра собак (контрольная группа).* Данный этап эксперимента выполняли одновременно с пункцией КМ под наркозом в асептических условиях операционной. Подготовка включала бритье животного, обработку операционного поля антисептиками, обкладывание стерильным бельем. В вертельной области бедра собаки выполняли разрез кожи (длиной 3 см), клетчатки, мышц. Пальпаторно определяли шейку бедра. Под контролем пальца в шейку по направлению к головке вводили спицу Киришнера, по которой с помощью канюлированного бора далее формировали дефект в шейке и головке бедра, осуществляя таким образом механическую деструкцию передневерхней части головки (5 головок бедер). Размер дефекта составлял 10 мм в диаметре, 20–30 мм в длину. В контрольной группе (5 головок бедер) после формирования дефектов очаги деструкции оставляли незаполненными (4 головки), в одном случае очаг заполняли фибриновым гелем без МСК. Рану промывали и ушивали послойно, кожу обрабатывали антисептиками.

*Получение МСК из костного мозга собак.* КМ собак доставляли из операционной в специализированную лабораторию клеточных биотехнологий и цитотерапии РНПЦ ДОГИ. Изготовление клеточного продукта МСК включало следующие этапы:

выделение фракции МНК из костного мозга в градиенте плотности раствора Гистопак-1077 путем наслоения костного мозга на Гистопак-1077 (соотношение 3:1) и последующего центрифугирования при 200 g в течение 30 мин;

отмывку выделенных МНК в среде IMDM с последующим центрифугированием при 400 g в течение 10 мин;

культивирование МНК в концентрации  $50 \cdot 10^6$  в полной среде IMDM с добавлением 10 %-ной ЭТС во флаконах для культивирования при 37 °C и 5 % CO<sub>2</sub> во влажной атмосфере и выделение МСК собаки методом адгезии клеток к пластиковой поверхности флакона;

экспансію МСК собаки путем проведения двух пассажей;  
снятие клеток с поверхности флакона раствором 0,25 %-ного трипсин-ЭДТА, отмывку клеток раствором 0,9 %-ного NaCl и идентификацию по морфологическим признакам полученных в культуре МСК.

Клеточный продукт недифференцированных МСК был получен для всех 5 животных. Основные характеристики по выделению и культивированию МСК приведены в табл. 2.

Т а б л и ц а 2. **Параметры получения недифференцированных МСК из КМ собак**  
T a b l e 2. **Parameters for obtaining undifferentiated MSCs from the dog's bone marrow**

№ животного	Объем КМ, мл	Срок культивирования, сут	К-во МСК на выходе, $\times 10^6$
1	10	53	12
2	10	53	12
3	18	24	19
4	9	24	30
5	9	24	34

Как видно из представленных данных, при эксфузии в среднем 11,2 [7,8; 14,5] мл КМ у собак можно в течение в среднем 35,6 [21,7; 49,5] сут экспансии клеток в культуре получить 21,4 [12,5; 30,3]·10<sup>6</sup> МСК. При проведении анализа на стерильность полученного клеточного материала бактериальной контаминации не обнаружено. Все клетки морфологически соответствовали МСК и имели веретенообразную форму при адгезии на пластике.

*Создание композита МСК в фибриновом геле для заполнения дефекта кости собаки.* Данный этап эксперимента включал следующие этапы:

получение фибринового геля путем смешивания 5 U/мл тромбина с 10 мг/мл разведенного фибриногена и с 0,1 %-ным раствором аprotенина в объемах, необходимых для заполнения дефекта кости;

заселение (10–30)·10<sup>6</sup> МСК в свежеприготовленный фибриновый гель и добавление к композиту МСК дифференциальной среды, содержащей 5 % альбумина, 10 мМ глицерол-2-фостата, 1 % антибиотика, 50  $\mu$ M L-аскорбиновой кислоты, 100 нМ дексаметазона в DMEM;

культивирование клеток в CO<sub>2</sub>-инкубаторе при 37 °C, 5 % CO<sub>2</sub> и 90 % влажности в течение 4–5 сут;

отмывку трансплантата от культуральной среды в 0,9 %-ном NaCl.

После направленной остеогенной дифференцировки МСК фибриновый сгусток с клетками извлекали из дифференцировочной среды для трансплантации животным. Размер каждого композита составлял около 15×15 мм (рис. 1).



Рис. 1. МСК в фибриновом геле перед введением в дефект костной ткани собаки

Fig. 1. MSCs in fibrin gel before the introduction into the dog's bone defect

Нами проведена оценка высева клеток из фибринового сгустка в процессе культивирования клеток. Для этого все клетки, оставшиеся в среде после удаления из нее фибринового сгустка, подсчитывали под микроскопом и рассчитывали относительную потерю (табл. 3).

Т а б л и ц а 3. Потеря клеток после культивирования в составе композита

T a b l e 3. Loss of cells after cultivation in the composition of the composite

№ животного	Число МСК, $\times 10^6$		Потери, %
	изначально	вне композита	
1	12	0,18	1,50
2	12	0,1	0,83
3	19	0,07	0,37
4	30	0,33	1,10
5	34	0,38	1,12
Среднее значение	21,4 [12,4; 30,3]	0,2 [0,09; 0,33]	1 [0,6; 1,4]

Подсчет показал, что в среднем  $0,2 [0,09; 0,33] \cdot 10^6$  клеток осталось на дне культуральных флаконов после изъятия имплантата, т. е. потеря составила  $1 [0,6; 1,4] \%$  от первоначального числа клеток. Таким образом, в составе фибринового геля в область костного дефекта каждой собаки было доставлено 99 % клеток.

*Остеогенная дифференцировка МСК в составе различных носителей.* Для получения биомедицинского клеточного продукта проводили экспериментальный подбор скаффолда – каркаса для заселения его МСК. В качестве 3D-носителя для МСК было использовано три различных материала: фибриновый гель, биоактивированный гидроксипатит «Коллапан-К», коллагеновая гемостатическая губка Lyostypt. Суспензию МСК в среде IMDM соединяли с каждым из носителей в двух вариантах: недифференцированные МСК и МСК, дифференцированные в течение 10 сут в остециты в монослое. После дифференцировки в культуральной среде с индукторами остеогенеза клеточные импланты были подвергнуты гистологическому анализу.

*Имплантация композита МСК животных (основная группа).* Введение приготовленного композита МСК для заполнения костного дефекта собаки осуществлялось под наркозом, в асептических условиях операционной вивария в течение 1 ч после его получения. Первоначально формировали дефект костной ткани головки бедра собаки на контралатеральной стороне вышеописанным способом. Далее биомедицинский клеточный продукт МСК в стерильных условиях извлекали из питательной среды с помощью инструментов и вводили внутрикостно в головку бедра с помощью толкателя. Для предотвращения вытекания последнего после имплантации мышцы в вертельной зоне над костной раной плотно сшивали узловыми швами с надкостницей. Следует отметить, что при этом качество и консистенция клеточного продукта позволяли извлекать и имплантировать его как «единую гелеобразную массу» без визуальных потерь жидкой клеточной части.

*Послеоперационное наблюдение.* В послеоперационном периоде осуществляли наблюдение и уход за животными, антибиотикопрофилактику (бицилин-3 в/м однократно) и обезболивание (50 %-ный раствор анальгина и 1 %-ный раствор димедрола в/м) с учетом веса животного. В процессе наблюдения уделяли внимание общему состоянию животных, потреблению ими пищи и воды, состоянию кожной раны. После выхода из наркоза наблюдалось постепенное восстановление нормальной реакции на звуковые и световые раздражители, а также двигательной активности. В первые сутки последняя была снижена из-за действия наркотических анальгетиков и проведенного оперативного вмешательства. Полное восстановление функций, нормализация потребления воды и пищи отмечались на 2-е–3-и сутки после операции. Послеоперационный период у всех собак протекал благоприятно. Раны зажили первичным натяжением. В течение 3 недель после операции у лабораторных животных наблюдалась незначительная хромота. Перечень регистрируемых показателей в процессе наблюдения за животными представлен в табл. 4.

Т а б л и ц а 4. Перечень регистрируемых показателей

T a b l e 4. List of recorded indicators

Показатель	Сроки регистрации
Общее состояние животных	В течение всего эксперимента
Состояние кожной раны	В течение всего эксперимента
Наличие хромоты, ограничения движений в тазобедренных суставах	3, 7, 14, 21, 42, 90, 180-е сутки после операции
Морфологические исследования	Взятие материала (головки бедер) после вывода животного из эксперимента

*Вывод животных из эксперимента и забор экспериментальных образцов.* Животных выводили из эксперимента через 6 мес. после трансплантации МСК путем 3-кратной разовой передозировки наркоза или на фоне глубокого наркоза путем остановки сердца и дыхания с помощью дополнительных вмешательств (смертельные дозы миорелаксантов (дитилина)) с соблюдением принципов биоэтики (в соответствии с ТКП 125-2008). Далее производили забор биологического материала (головки бедренных костей) для дальнейших исследований.

*Патоморфологическое исследование.* Гистологическое исследование материала выполняли на базе РНПЦ ТО. Материалом являлись головки бедренных костей собак (10 головок бедер), полученные при выполнении экспериментального этапа работы. Операционный материал в лабораторию клинической морфологии РНПЦ ТО доставляли из вивария маркированным, с указанием локализации изъятого материала.

Фрагменты костной ткани головки бедренной кости после распила фиксировали в 10 %-ном нейтральном формалиновом буфере. Костные препараты после фиксации декальцинировали в растворе муравьиной кислоты. Обезжиривание проводили в спиртах возрастающей концентрации, а кусочки ткани заливали в парафиновые блоки, из которых затем готовили гистологические срезы толщиной 4 мкм. Все микропрепараты окрашивали гематоксилином и эозином и по методу Ван-Гизона. Препараты изучали под световым микроскопом AxioVision 40 фирмы Carl Zeiss. Морфометрическое исследование костной ткани выполняли с помощью программного обеспечения обработки и анализа цифрового изображения AxioVision 4.7.2/Carl Zeiss (Modules Automatic measurement & Interactive measurement). С помощью гистоморфометрического метода измеряли общую площадь изучаемого гистопрепарата; площадь, занимаемую костными балками; процентное соотношение площади, занимаемой костными балками, к общей площади и площадь межбалочных пространств. На микрофотографиях гистологических препаратов ручным методом определяли толщину гиалинового хряща, толщину субхондральной костной пластинки и толщину костных балок на нагружаемых и ненагружаемых участках головки бедренной кости.

Статистический анализ был проведен с помощью программ MS EXCEL 2013, AtteStat. Использовались непараметрические методы, поскольку распределение количественных показателей в группах отличалось от нормального. При анализе количественных показателей высчитывали среднее значение и доверительный интервал с учетом небольшого объема выборки в виде  $Me [\alpha, \beta]$ .

**Результаты и их обсуждение.** Результаты гистологического анализа биомедицинского клеточного продукта после дифференцировки показали, что при заселении фибринового геля недифференцированными МСК с последующей направленной остеогенной дифференцировкой *in vitro* наблюдалось равномерное, плотное распределение в геле клеток с интенсивной функциональной синтетической активностью (рис. 2).

Заселение коллагеновой губки недифференцированными МСК с последующей остеодифференцировкой *in vitro* происходило неравномерно (островками), а при заселении остеогенно преддифференцированными в монослое МСК выявлены фибриновые волокна и отмечалось полное отсутствие клеток в носителе. При гистологическом анализе композитов с носителем «Коллапан-К» обнаружен только аморфный материал с кальцинатами. Жизнеспособные клетки или клеточный детрит на гистологических срезах не найдены.

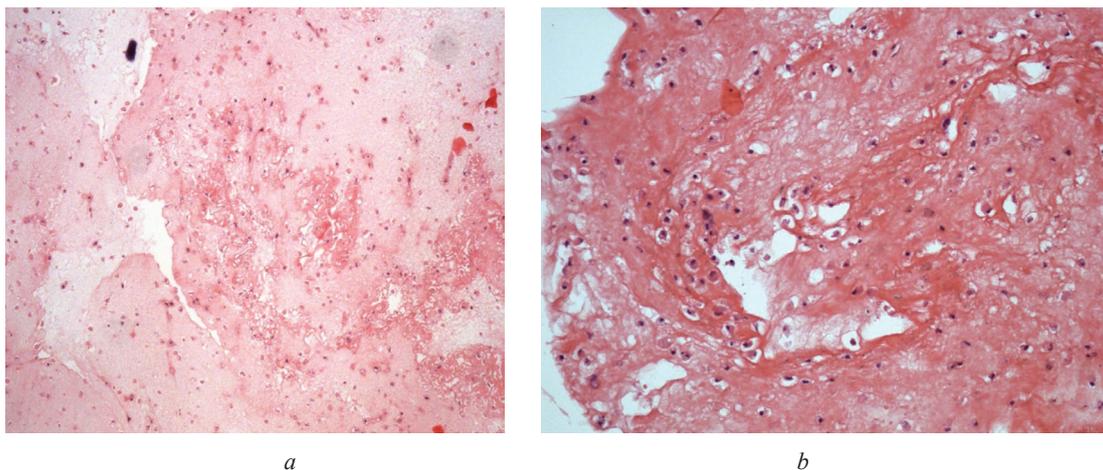


Рис. 2. Биокompозит недифференцированных МСК в фибриновом геле через 14 сут после остеодифференцировки в 3D-системе (*a* –  $\times 40$ , *b* –  $\times 600$ )

Fig. 2. Biocomposite of undifferentiated MSCs in the fibrin gel after 14 days osteodifferentiation in the 3D system (*a* –  $\times 40$ , *b* –  $\times 600$ )

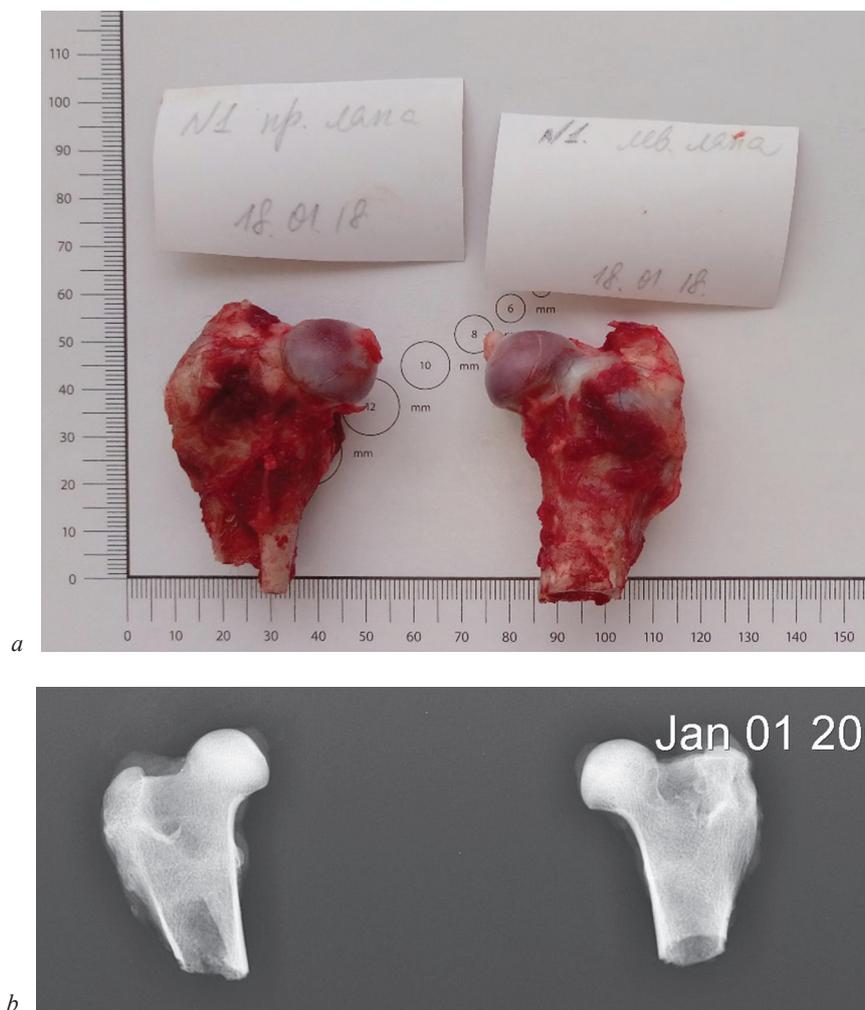


Рис. 3. Экспериментальный образец № 1 после вывода животного из эксперимента: *a* – вид макропрепарата, *b* – рентгенограмма проксимальных отделов бедер собаки

Fig. 3. Experimental sample no. 1 after the animal withdrawal from the experiment: *a* – type of macropreparation, *b* – radiograph of the dog's proximal hips

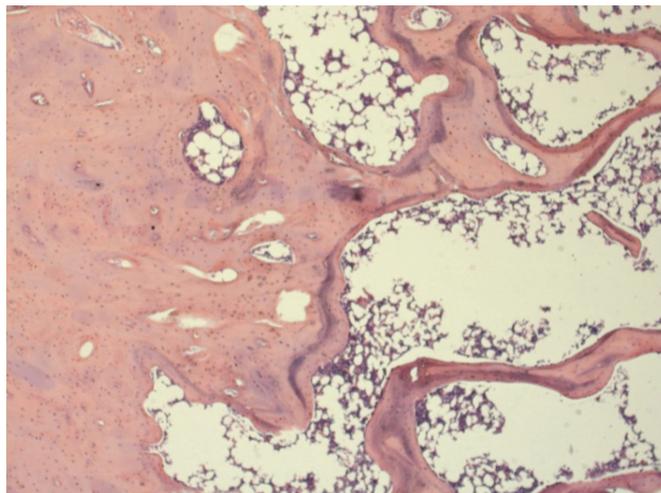


Рис. 4. Образование костной ткани после введения МСК (на месте введения МСК образуется зрелая костная ткань компактного строения с сочными остеобластами; отмечается напластование на предшествующие костные структуры вновь образованного остеοидного вещества; четко видны линии склеивания). Окраска гематоксилином и эозином. Микрофото,  $\times 50$

Fig. 4. Formation of the bone tissue after the MSC introduction (at the site of the MSC injection, the mature bone tissue of a compact structure with juicy osteoblasts is formed; the pre-existing bone structures are stratified by a newly formed osteoid substance; the bonding lines are clearly visible). Hematoxylin and eosin stain. Microphoto,  $\times 50$

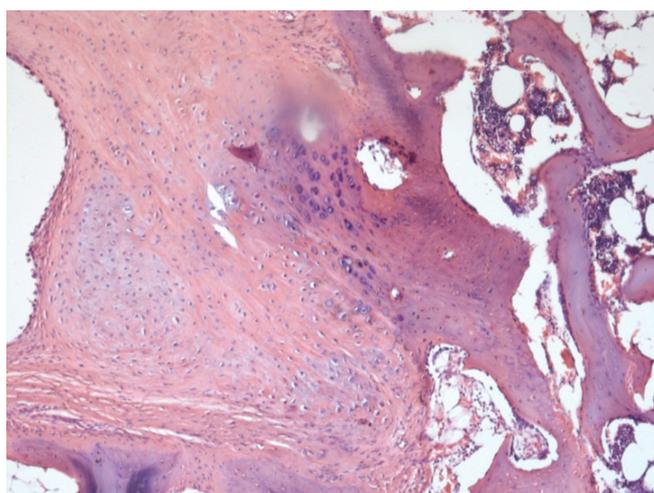


Рис. 5. Регенерация костной ткани без введения МСК (контрольная группа) (поля остео- и хондробластической ткани без формирования костных структур). Окраска гематоксилином и эозином. Микрофото,  $\times 100$

Fig. 5. Bone tissue regeneration without the MSC administration (control group) (osteo- and chondroblastic tissue fields without the formation of bone structures). Hematoxylin and eosin stain. Microphoto,  $\times 100$

В ходе эксперимента проведены оперативные вмешательства (экспузия КМ для получения МСК и аутоотрансплантация клеточного продукта) на 5 собаках. После операций осуществляли наблюдение и уход за экспериментальными животными, а затем выводили их из эксперимента и производили забор биологического материала для дальнейших исследований (рис. 3).

Результаты гистологического исследования микропрепаратов головок бедренных костей собаки № 1 подтвердили образование зрелой костной ткани компактного строения с сочными остеобластами на месте введения МСК. В контралатеральной головке бедра собаки без введения МСК (контрольная сторона) место дефекта было выполнено грубоволокнистой остеобластической тканью без формирования костных структур (рис. 4).

Микропрепараты головок бедер собак № 2 и № 3 после введения МСК характеризовались утолщенными костными балками с напластованным остеοидным и костным веществом, четкими линиями склеивания. В межбалочном пространстве визуализировались кровеносные сосуды артериального типа, что подтверждает процессы остеοрегенерации. В головках бедер, в которые не вводили МСК, место дефекта было выполнено остеοбластической тканью с началом формирования остеοидных балочных структур. Зрелые костные структуры (костные балки) отсутствовали. Среди остеοбластической ткани были видны фрагменты некротизированных костных структур в стадии резорбции. Такая гистологическая картина позволила сделать заключение о том, что применение остеοдифференцированных МСК в составе фибринового геля стимулирует и улучшает остеοрегенерацию дефектов головки бедренной кости. Микропрепараты головок бедер собак № 4 и № 5 показали схожую гистологическую картину в основной и контрольной группах. Существенных отличий регенерации костной ткани не обнаружено. На наш взгляд, причина этого – большие сроки наблюдения за животными (6 мес.) после формирования дефектов и введения МСК в головку бедра. В нашей работе это было вынужденным обстоятельством. Оптимальным сроком для оценки результатов остеοрегенерации костной ткани у собак можно считать 3 мес. Гистологических изменений в тканях тазобедренных суставов животных (суставном хряще, мышцах, связках, капсуле и синовиальной оболочке) не наблюдалось.

Реконструкция участка костной ткани требует особого подхода, т. е. создания клеточной конструкции на основе носителя, при этом важнейшим является сохранение жизнеспособности и функциональной активности клеток. Идеальный носитель должен обладать такими свойствами, как биосовместимость, остеοиндуктивность, биопроводимость, а также физическими свойствами, которые будут позволять перенести клеточный продукт из пробирки в головку бедра с помощью хирургического инструмента. Поскольку очаг некроза головки расположен на большой глубине, носитель должен сохранять свои физические свойства на протяжении всего процесса пространственного перемещения и имплантации. В противном случае возможны растрескивание, разрыв биокомпозита и потеря клеток. Ряд исследователей для хирургической имплантации клеток в головку бедра использовали пункционный способ [15], однако, на наш взгляд, технически выполнить пункцию костной ткани головки бедра весьма затруднительно, тем более ввести туда жидкий клеточный продукт, который бы впоследствии оказал влияние на окружающую кость. В качестве другого способа описана внутриартериальная доставка аутологичных МСК через медиальную огибающую бедренную артерию к головке бедра [19]. Но, учитывая высокую скорость кровотока в артерии подобного калибра, можно предположить весьма кратковременное воздействие МСК на пораженную зону головки бедра.

Проведенные нами экспериментальные исследования на животных позволили отработать на практике протокол получения МСК и создать оптимальный каркас-носитель для введения МСК в зону некроза. Нами создан оптимальный, на наш взгляд, способ трансплантации МСК с использованием стволовых клеток, полученных из КМ. Для уменьшения травматичности вмешательства, минимизации потери клеточного продукта в качестве скаффолда был выбран фибриновый гель. Для предотвращения вытекания геля из дефекта кости после имплантации мышцы в вертельной зоне над костной раной плотно сшивали с надкостницей. При оценке результатов эксперимента учитывали схожесть массо-ростовых показателей собак, размеры и локализацию созданных дефектов, способы трансплантации биокомпозитов, схожие сроки наблюдения за животными. Результаты трансплантации оценивали в сравнении с таковыми в контрольной группе.

Фибриновый носитель может применяться как тканевой заместитель в связи с хорошей биосовместимостью, биодegradацией и способностью поддерживать пролиферацию и дифференцировку внесенных в него клеток. Основу фибринового геля составляет фибрин – натуральный фиброзный протеин, участвующий в процессе свертывания крови. Кроме того, преимуществом является способность фибринового геля формировать непрерывную границу с костной тканью в месте имплантации.

**Заклучение.** Результаты по заселению носителей МСК различной степени остеогенной дифференцировки показали, что преимущество имеет метод заселения носителей недифференцированными МСК с последующей дифференцировкой клеток уже в составе композита.

При сравнительном исследовании свойств различных носителей для клеточного продукта МСК с целью репарации костной ткани установлено, что в качестве скаффолда наиболее перспективно использовать фибриновый гель, который заселяется клетками равномерно, причем гистологический анализ свидетельствует об активной выработке клетками белка.

Результаты гистологического исследования микропрепаратов головок бедренных костей собак подтверждают образование зрелой костной ткани компактного строения с остеобластами на месте введения МСК. В экспериментальных образцах контрольной группы (без введения МСК) место дефекта выполнено грубоволокнистой остеобластической тканью без формирования костных структур.

Экспериментально разработанный нами способ аутотрансплантации МСК показал свою эффективность в восстановлении костной ткани головки бедра и может быть рекомендован для применения в клинической практике.

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

### Список использованных источников

1. Эффективность использования биорезорбируемых материалов для заполнения костных полостей при остеонекрозе головки бедренной кости / В. А. Конев [и др.] // Травматология и ортопедия России. – 2014. – № 3. – С. 28–38.
2. Hernigou, P. Decrease in the mesenchymal stem-cell pool in the proximal femur in corticosteroid-induced osteonecrosis / P. Hernigou, F. Beaujean, J. C. Lambotte // J. Bone Joint Surg. – 1999. – Vol. 81, N 2. – P. 349–355. <https://doi.org/10.1302/0301-620x.81b2.8818>
3. Klingemanna, H. Mesenchymal stem cells – sources and clinical applications / H. Klingemann, D. Matzilevich, J. Marchand // Transfus. Med. Hemother. – 2008. – Vol. 35, N 4. – P. 272–277. <https://doi.org/10.1159/000142333>
4. Aging is associated with decreased maximal life span and accelerated senescence of bone marrow stromal cells / K. Stenderup [et al.] // Bone. – 2003. – Vol. 33, N 6. – P. 919–926. <https://doi.org/10.1016/j.bone.2003.07.005>
5. Conget, P. A. Identification of a discrete population of human bone marrow-derived mesenchymal cells exhibiting properties of uncommitted progenitors / P. A. Conget, C. Allers, J. J. Minguell // J. Hematother. Stem Cell Res. – 2001. – Vol. 10, N 6. – P. 749–758. <https://doi.org/10.1089/152581601317210845>
6. Malluche, H. Renal bone disease 1990: an unmet challenge for the nephrologist / H. Malluche, M. C. Faugere // Kidney Int. – 1990. – Vol. 38, N 2. – P. 193–211. <https://doi.org/10.1038/ki.1990.187>
7. K/DOQI clinical practice guidelines for bone metabolism and disease in chronic kidney disease / Nat. Kidney Found. // Am. J. Kidney Dis. – 2003. – Vol. 42, N 4, suppl. 3. – P. S1–S201.
8. The Dialysis Outcomes and Practice Patterns Study (DOPPS): design, data elements, and methodology / R. L. Pisoni [et al.] // Am. J. Kidney Dis. – 2004. – Vol. 44, N 5C, suppl. 2. – P. 7–15. <https://doi.org/10.1053/j.ajkd.2004.08.005>
9. Development of an osteogenic bone-marrow preparation / J. Connolly [et al.] // J. Bone Joint Surg. Am. – 1989. – Vol. 71, N 5. – P. 684–691. <https://doi.org/10.2106/00004623-198971050-00007>
10. Autologous bone marrow mesenchymal stem cells associated with tantalum rod implantation and vascularized iliac grafting for the treatment of end-stage osteonecrosis of the femoral head / D. Zhao [et al.] // BioMed Res. Int. – 2015. – Vol. 2015. – P. 1–9. <https://doi.org/10.1155/2015/240506>
11. An exploratory clinical trial for idiopathic osteonecrosis of femoral head by cultured autologous multipotent mesenchymal stromal cells augmented with vascularized bone grafts / T. Aoyama [et al.] // Tissue Eng. Part B: Rev. – 2014. – Vol. 20, N 4. – P. 233–242. <https://doi.org/10.1089/ten.teb.2014.0090>
12. Tissue-engineered approach for the treatment of steroid-induced osteonecrosis of the femoral head: transplantation of autologous mesenchymal stem cells cultured with beta-tricalcium phosphate ceramics and free vascularized fibula / K. Kawate [et al.] // Artif. Organs. – 2006. – Vol. 30, N 12. – P. 960–962. <https://doi.org/10.1111/j.1525-1594.2006.00333.x>
13. Low oxygen tension inhibits osteogenic differentiation and enhances stemness of human MIAMI cells / G. D'Ippolito [et al.] // Bone. – 2006. – Vol. 39, N 3. – P. 513–522. <https://doi.org/10.1016/j.bone.2006.02.061>
14. Langenbach, F. Effects of dexamethasone, ascorbic acid and  $\beta$ -glycerophosphate on the osteogenic differentiation of stem cells *in vitro* / F. Langenbach, J. Handschel // Stem Cell Res. Ther. – 2013. – Vol. 4, N 5. – Art. 117. <https://doi.org/10.1186/scrt328>
15. Development of a simple procedure for the treatment of femoral head osteonecrosis with intra-osseous injection of bone marrow mesenchymal stromal cells: study of their biodistribution in the early time points after injection / A. Lebouvier [et al.] // Stem Cell Res. Ther. – 2015. – Vol. 6, N 1. – Art. 68. <https://doi.org/10.1186/s13287-015-0036-y>
16. Fate of mesenchymal stem cells transplanted to osteonecrosis of femoral head / Z. Yan [et al.] // J. Orthop. Res. – 2009. – Vol. 27, N 4. – P. 442–446. <https://doi.org/10.1002/jor.20759>

17. Core decompression with marrow stem cells / P. Hernigou [et al.] // *Oper. Tech. Orthop.* – 2004. – Vol. 14, N 2. – P. 68–74. <https://doi.org/10.1053/j.oto.2004.03.001>
18. Stem cell treatment for avascular necrosis of the femoral head: current perspectives / R. J. Sierra [et al.] // *Stem Cells Cloning: Advances Applications.* – 2014. – Vol. 7. – P. 65–70. <https://doi.org/10.2147/scca.s36584>
19. The efficacy of targeted intraarterial delivery of concentrated autologous bone marrow containing mononuclear cells in the treatment of osteonecrosis of the femoral head: a five year follow-up study / Q. Mao [et al.] // *Bone.* – 2013. – Vol. 57, N 2. – P. 509–516. <https://doi.org/10.1016/j.bone.2013.08.022>

## References

1. Konev V. A., Tikhilov R. M., Shubnyakov I. I., Myasoedov A. A., Denisov A. O. Bioresorbable materials for bone defects substitution in patients with osteonecrosis of the femoral head. *Travmatologiya i ortopediya Rossii* [Traumatology and orthopedics of Russia], 2014, no. 3, pp. 28–38 (in Russian).
2. Hernigou P., Beaujean F., Lambotte J. C. Decrease in the mesenchymal stem-cell pool in the proximal femur in corticosteroid-induced osteonecrosis. *The Journal of Bone and Joint Surgery*, 1999, vol. 81, no. 2, pp. 349–355. <https://doi.org/10.1302/0301-620x.81b2.8818>
3. Klingemann H., Matzilevich D., Marchand J. Mesenchymal stem cells – sources and clinical applications. *Transfusion Medicine and Hemotherapy*, 2008, vol. 35, no. 4, pp. 272–277. <https://doi.org/10.1159/000142333>
4. Stenderup K., Justesen J., Clausen C., Kassem M. Aging is associated with decreased maximal life span and accelerated senescence of bone marrow stromal cells. *Bone*, 2003, vol. 33, no. 6, pp. 919–926. <https://doi.org/10.1016/j.bone.2003.07.005>
5. Conget P. A., Allers C., Minguell J. J. Identification of a discrete population of human bone marrow-derived mesenchymal cells exhibiting properties of uncommitted progenitors. *Journal of Hematotherapy and Stem Cell Research*, 2001, vol. 10, no. 6, pp. 749–758. <https://doi.org/10.1089/152581601317210845>
6. Malluche H., Faugere M. C. Renal bone disease 1990: an unmet challenge for the nephrologist. *Kidney International*, 1990, vol. 38, no. 2, pp. 193–211. <https://doi.org/10.1038/ki.1990.187>
7. K/DOQI clinical practice guidelines for bone metabolism and disease in chronic kidney disease. *American Journal of Kidney Diseases*, 2003, vol. 42, no. 4, suppl. 3, pp. S1–S201.
8. Pisoni R. L., Gillespie B. W., Dickinson D. M., Chen K., Kutner M. H., Wolfe R. A. The Dialysis Outcomes and Practice Patterns Study (DOPPS): design, data elements, and methodology. *American Journal of Kidney Diseases*, 2004, vol. 44, no. 5C, suppl. 2, pp. 7–15. <https://doi.org/10.1053/j.ajkd.2004.08.005>
9. Connolly J., Guse R., Lippiello L., Dehne R. Development of an osteogenic bone-marrow preparation. *Journal of Bone and Joint Surgery*, 1989, vol. 71, no. 5, pp. 684–691. <https://doi.org/10.2106/00004623-198971050-00007>
10. Zhao D., Liu B., Wang B., Yang L., Xie H., Huang S., Zhang Y., Wei X. Autologous bone marrow mesenchymal stem cells associated with tantalum rod implantation and vascularized iliac grafting for the treatment of end-stage osteonecrosis of the femoral head. *BioMed Research International*, 2015, vol. 2015, pp. 1–9. <https://doi.org/10.1155/2015/240506>
11. Aoyama T., Goto K., Kakinoki R., Ikeguchi R., Ueda M., Kasai Y. [et al.]. An exploratory clinical trial for idiopathic osteonecrosis of femoral head by cultured autologous multipotent mesenchymal stromal cells augmented with vascularized bone grafts. *Tissue Engineering. Part B: Reviews*, 2014, vol. 20, no. 4, pp. 233–242. <https://doi.org/10.1089/ten.teb.2014.0090>
12. Kawate K., Yajima H., Ohgushi H., Kotobuki N., Sugimoto K., Ohmura T. [et al.]. Tissue-engineered approach for the treatment of steroid-induced osteonecrosis of the femoral head: transplantation of autologous mesenchymal stem cells cultured with beta-tricalcium phosphate ceramics and free vascularized fibula. *Artificial Organs*, 2006, vol. 30, no. 12, pp. 960–962. <https://doi.org/10.1111/j.1525-1594.2006.00333.x>
13. D'Ippolito G., Diabira S., Howard G. A., Roos B. A., Schiller P. C. Low oxygen tension inhibits osteogenic differentiation and enhances stemness of human MIAMI cells. *Bone*, 2006, vol. 39, no. 3, pp. 513–522. <https://doi.org/10.1016/j.bone.2006.02.061>
14. Langenbach F., Handschel J. Effects of dexamethasone, ascorbic acid and  $\beta$ -glycerophosphate on the osteogenic differentiation of stem cells *in vitro*. *Stem Cell Research and Therapy*, 2013, vol. 4, no. 5, art. 117. <https://doi.org/10.1186/scrt328>
15. Lebouvier A., Poignard A., Cavet M., Amiaud J., Leotot J., Hernigou P. [et al.]. Development of a simple procedure for the treatment of femoral head osteonecrosis with intra-osseous injection of bone marrow mesenchymal stromal cells: study of their biodistribution in the early time points after injection. *Stem Cell Research and Therapy*, 2015, vol. 6, no. 1, art. 68. <https://doi.org/10.1186/s13287-015-0036-y>
16. Yan Z., Hang D., Guo C., Chen Z. Fate of mesenchymal stem cells transplanted to osteonecrosis of femoral head. *Journal of Orthopaedic Research*, 2009, vol. 27, no. 4, pp. 442–446. <https://doi.org/10.1002/jor.20759>
17. Hernigou P., Manicom O., Poignard A., Nogier A., Filippini P., de Abreu L. Core decompression with marrow stem cells. *Operative Techniques in Orthopaedics*, 2004, vol. 14, no. 2, pp. 68–74. <https://doi.org/10.1053/j.oto.2004.03.001>
18. Sierra R. J., Houdek M. T., Wyles C. C., Martin J. R. Stem cell treatment for avascular necrosis of the femoral head: current perspectives. *Stem Cells and Cloning: Advances and Applications*, 2014, vol. 7, pp. 65–70. <https://doi.org/10.2147/scca.s36584>
19. Mao Q., Jin H., Liao F., Xiao L., Chen D., Tong P. The efficacy of targeted intraarterial delivery of concentrated autologous bone marrow containing mononuclear cells in the treatment of osteonecrosis of the femoral head: a five year follow-up study. *Bone*, 2013, vol. 57, no. 2, pp. 509–516. <https://doi.org/10.1016/j.bone.2013.08.022>

### Информация об авторах

*Мурзич Александр Эдуардович* – канд. мед. наук, заведующий лабораторией. Республиканский научно-практический центр травматологии и ортопедии (ул. Кижеватова, 60/4, 220024, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: mae77@list.ru

*Пашкевич Людмила Антоновна* – д-р мед. наук, заведующий лабораторией. Республиканский научно-практический центр травматологии и ортопедии (ул. Кижеватова, 60/4, 220024, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: pashkevichla@mail.ru

*Жерносеченко Анна Александровна* – науч. сотрудник. Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии (ул. Фрунзенская, 43, 223053, Минский р-н, д. Боровляны, Республика Беларусь). E-mail: sapphire.anna@gmail.com

### Information about the authors

*Alyaksandr E. Murzich* – Ph. D. (Med.), Head of the Laboratory. Republican Scientific and Practical Center of Traumatology and Orthopedics (60, Bld. 4, Kizhevatov Str., 220024, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: mae77@list.ru

*Lyudmila A. Pashkevich* – D. Sc. (Med.), Head of the Laboratory. Republican Scientific and Practical Center of Traumatology and Orthopedics (60, Bld. 4, Kizhevatov Str., 220024, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: pashkevichla@mail.ru

*Hanna A. Zhernasechanka* – Researcher. Republican Research Center for Pediatric Oncology, Hematology and Immunology (43, Frunzenskaya Str., v. Borovliany, 223053, Minsk Region, Republic of Belarus). E-mail: sapphire.anna@gmail.com

ISSN 1814-6023 (Print)

ISSN 2524-2350 (Online)

UDC 616.314-007.21:616.314-77-089.843]-085.837.3

<https://doi.org/10.29235/1814-6023-2020-17-1-20-27>

Received 18.12.2019

**Sergey P. Rubnikovich<sup>1</sup>, Ilya S. Khomich<sup>1</sup>, Yuliya L. Denisova<sup>2</sup>**

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

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

## **MORPHOLOGICAL CHANGES IN THE BONE TISSUE AROUND DENTAL IMPLANTS AFTER LOW-FREQUENCY LOW-INTENSITY ULTRASOUND APPLICATIONS**

**Abstract.** The article presents the results of a histological study of morphological changes in bone tissue around established dental implants after exposure to low-intensity, low-frequency ultrasound during dental implantation.

Histological studies of tibia bone blocks were conducted in three groups of laboratory animals around installed dental implants, which were subjected to different modes of ultrasonic exposure.

In the course of studies, it was found that the processes of osseointegration of dental implants in animals of all groups occurred without staging. In the early stages, granulation tissue was formed, which was subsequently replaced by reticulofibrotic bone tissue, and then by more mature lamellar tissue. The timing and degree of bone maturation, as well as the indicators of osseointegration in groups using low-intensity pulsed ultrasound and without it, were significantly different.

It was shown that the ultrasound effect on peri-implant tissues induces osteoreparative processes, stimulating neoangiogenesis in granulation and newly formed bone tissue. It has been established that ultrasonic exposure of implants, and then peri-implant tissues during dental implantation, promotes the formation of bone tissue, the histostructure of which is similar to the histostructure of the maternal bone at earlier stages.

**Keywords:** bone regeneration, osteoblasts, low-intensity ultrasound, dental implants, histology

**For citation:** Rubnikovich S. P., Khomich I. S., Denisova Yu. L. Morphological changes in the bone tissue around dental implants after low-frequency low-intensity ultrasound applications. *Vesti Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seriya meditsinskikh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2020, vol. 17, no. 1, pp. 20–27. <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2020-17-1-20-27>

**С. П. Рубникович<sup>1</sup>, И. С. Хомич<sup>1</sup>, Ю. Л. Денисова<sup>2</sup>**

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

<sup>2</sup>*Белорусский государственный медицинский университет, Минск, Республика Беларусь*

## **МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ КОСТНОЙ ТКАНИ ВОКРУГ ДЕНТАЛЬНЫХ ИМПЛАНТАТОВ ПОСЛЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ НИЗКОЧАСТОТНЫМ УЛЬТРАЗВУКОМ НИЗКОЙ ИНТЕНСИВНОСТИ**

**Аннотация.** В статье представлены результаты гистологического исследования морфологических изменений в костной ткани вокруг установленных дентальных имплантатов после воздействия низкоинтенсивным низкочастотным ультразвуком при дентальной имплантации.

Проведены гистологические исследования блоков костной ткани вокруг установленных дентальных имплантатов, которые подвергались разным режимам ультразвукового воздействия большеберцовой кости, у лабораторных животных трех групп.

В ходе исследований установлено, что процессы остеоинтеграции дентальных имплантатов у животных всех групп происходили без нарушения стадийности. На ранних сроках формировалась грануляционная ткань, которая впоследствии замещалась ретикулофиброзной костной тканью, а затем и более зрелой пластинчатой. Сроки и степень созревания костной ткани, а также показатели остеоинтеграции в группах с использованием низкоинтенсивного импульсного ультразвука и без его применения значительно отличались.

Показано, что ультразвуковое воздействие на перимплантные ткани индуцирует процессы остеорепарации, стимулируя неоангиогенез в грануляционной и новообразованной костной ткани. Установлено, что ультразвуковое воздействие на имплантаты, а затем и на перимплантные ткани при дентальной имплантации способствует формированию костной ткани, гистоструктура которой схожа с гистоструктурой материнской кости в более ранние сроки.

**Ключевые слова:** регенерация кости, остеобласты, ультразвук низкой интенсивности, дентальные имплантаты, гистология

**Для цитирования:** Рубникович, С. П. Морфологические изменения костной ткани вокруг дентальных имплантатов после воздействия низкочастотным ультразвуком низкой интенсивности / С. П. Рубникович, И. С. Хомич, Ю. Л. Денисова // Вест. Нац. акад. наук Беларусі. Сер. мед. навук. – 2020. – Т. 17, № 1. – С. 20–27. <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2020-17-1-20-27>

**Introduction.** Dental implants can significantly improve the results of recovering chewing efficiency in patients with dentition defects, improve the fixation of removable dentures, or replace them with non-removable prostheses [1–4].

Since the beginning of the 1990s, studies of the potential therapeutic effects of ultrasound on the bones of the maxillofacial region were being performed, and most of these studies have reported positive results. Researchers have shown that the application of ultrasound increases the synthesis of angiogenesis-related cytokines such as interleukin 8, fibroblast growth factor, and vascular endothelial growth factor. Studies have confirmed the ability of ultrasound therapy to improve healing of mandibular fractures and osteoradionecrosis, enhance the proliferation of fibroblasts and osteoblasts. With its unique ability to accelerate bone repair, low intensity pulsed ultrasound may be a promising new method to improve the quality of osseointegration of dental implants [5–16].

Osseointegration is defined as direct bone formation on the implant surface and is a functional ankylosis. This concept has been described by prof. P. I. Branemark and in 1977 he formulated the phenomenon of osseointegration: “Direct structural and functional connection between the highly differentiated living bone and the bearing surface of the supporting implant, revealed at the level of a light microscope”. P. I. Branemark formulated the necessary conditions for the success of implantation and strong osseointegration: sterility, surface cleanliness, non-invasiveness, geometric congruence of the bed and structure, etc. He also proposed the use of implants from two parts – intraosseous and supra-gingival (abutment) [1].

Osseointegration belongs to the category of direct or primary healing. It can be compared with the direct healing of fractures, in which the ends of the fragments fuse together without intermediate fibrous or fibrocartilaginous tissue. There is, however, a fundamental difference: osseointegration does not integrate bone with bone, but bone with the implant surface. From the point of view of tissue engineering, the implant surface acts as a scaffold (frame) in this unique phenomenon. Modern dental and orthopedic implants have been developed based on this concept and are called osseointegrated. Osseointegration includes several cellular and extracellular biological processes that occur at the border of the bone – implant, and contribute to the formation of bone on the surface of the implant. Activation of osteogenic processes occurs due to growth and differentiation factors secreted by activated blood cells on the implant surface [2].

Immediately after implantation, the bone matrix contacts the extracellular fluid, and non-collagen proteins and growth factors are released and activate bone regeneration. Bone marrow cells by chemotaxis from the endocortical space and the bone endostium migrate to the lesion site. They multiply and differentiate into osteoblasts, creating a layer of a non-collagen matrix on the surface of the implant, which regulates cell adhesion and mineral binding [3].

The deposition of a new calcified matrix on the surface of the implant is formed in the period from 4 to 6 weeks after implantation and is a coarse fiber. It is often regarded as a primitive type of bone tissue and is characterized by random (like felt) orientation of collagen fibrils, numerous, irregularly shaped osteocytes, and relatively low mineral density. The coarse-grained bone fills the initial space at the implant-bone border. Organized in a three-dimensional network, it determines a sufficiently high resistance of the implant to early loading. Its physical architecture is a biological framework for cell attachment and bone formation, which provides secondary (biological) stability of the implant [4].

Starting from the second month, the coarse fibrous bone is gradually remodeled and replaced by the plate bone, which can achieve a high degree of mineralization. Three months after implantation, a mixed structure of bone tissue and plate matrix is found around the implant [5].

The last stage of osseointegration consists of bone tissue remodeling, begins around the third month and helps to adapt the bone structure to stress and mechanical stress. The bone renewal around the implant is characterized by the presence of bone marrow spaces containing osteoclasts, osteoblasts, mesenchymal cells, lymphatic and blood vessels near the surface of the implant. This process improves bone quality and functional adaptation by replacing an existing, necrotic bone and/or initially formed coarse fibrous bone with a mature, viable plate bone, or by changing the size and orientation of the trabeculae. Bone remodeling continues throughout life, preventing the accumulation of microdamage and bone fatigue and ensuring the long-term functioning of the implant [6].

The desire to minimize the percentage of complications after dental implantation, minimize the risk of rejection of implants and achieve the most complete osseointegration encourages researchers to constantly search for new and effective methods of surface treatment of implants, surgical techniques, physical methods of influencing the postoperative area and their combinations [7].

Physiotherapeutic procedures, it would seem, require a lot of time and the involvement of a doctor or nurse for the correct procedure, but the positive effect of this “additional” treatment is very significant. For example, the results of a number of studies indicate that pulsed ultrasound waves can accelerate the healing of fractures of the tubular bones and lower jaw. Low-intensity pulsed ultrasound has a direct effect on cellular physiology, increasing the incorporation of calcium ions in cartilage and bone cell cultures and stimulating the expression of numerous genes involved in the healing process. In addition to modulating gene expression, ultrasound can stimulate angiogenesis and increase blood flow around the fracture. In addition, acoustic pressure waves facilitate fluid flow, which increases the delivery of nutrients and waste disposal (the acoustic flow phenomenon), thereby stimulating the proliferation and differentiation of fibroblasts, chondroblasts, and osteoblasts [8, 13, 16].

Low-intensity pulsed ultrasound was used to stimulate the healing of fractures and osteotomies in orthopedics. In dentistry, we studied the effects of low-frequency ultrasound on periodontal tissues and bone regeneration in the postoperative period and obtained confirmed positive results from exposure to the organs of the maxillofacial region. Studies by foreign scientists have demonstrated the promise of using low-intensity ultrasound in the induction of bone formation around titanium blanks installed by experimental animals [9, 14, 17].

Although the exact mechanism of interaction of low-frequency ultrasound with living tissue and stimulation of bone healing remains unclear, studies in this direction have shown that low-intensity pulsed ultrasound can stimulate bone tissue regeneration [8, 15, 18].

Based on the information available on this topic, we conducted an experimental-clinical study aimed at studying the positive effects of ultrasound on implants and peri-implant tissues to optimize osseointegration processes during dental implantation.

The aim of the study is to perform histological evaluation of effectiveness of the use of ultrasound for bone restoration and formation in dental implant placement.

**Materials and research methods.** To study the nature of morphological changes in peri-implant bone tissue under the influence of contact exposure to the implant and peri-implant tissues with low-frequency ultrasound, experimental studies were carried out on 77 rabbits of the Chinchilla breed of both sexes, kept in stationary conditions on a high-grade standard diet according to the established norms in accordance with the rules for working with experimental animals. The animals were divided into three groups: the first – a comparison group (27 rabbits), the second and third – experimental groups (25 rabbits each).

In the first group (comparison group) were laboratory animals after the installation of dental implants by the traditional method recommended by the manufacturer (without the use of low-intensity pulsed ultrasound). The second group consisted of laboratory animals to which dental implants were contact-sounded with low-intensity pulsed ultrasound during their installation. In the third group, laboratory animals placed dental implants in the tibia, voiced them with low-intensity pulsed ultrasound and the subsequent contact exposure of low-intensity pulsed ultrasound to the peri-implant region. After the observation period, the animals were withdrawn from the experiment in compliance with the principles of bioethics (in accordance with GLP standards). Pathomorphological evaluation of biopsy samples of the studied groups was performed 1, 2, 4, 8 weeks after implantation.

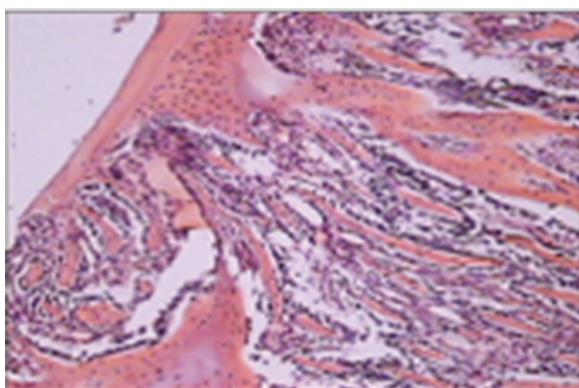


Fig. 1. Morphological features of peri-implant tissues in experimental animals of the second group at 1 week (H & E stain,  $\times 200$ )

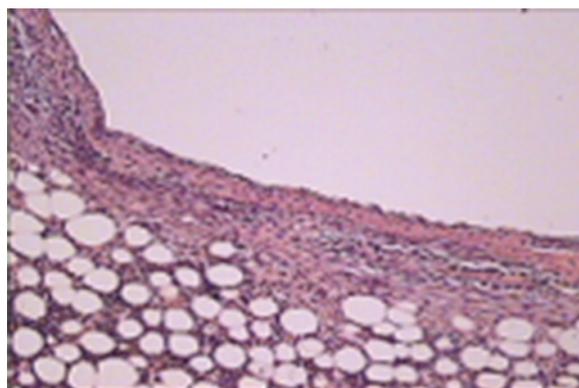


Fig. 2. Morphological features of peri-implant tissues in experimental animals of the third group at 1 week (H & E stain,  $\times 200$ )

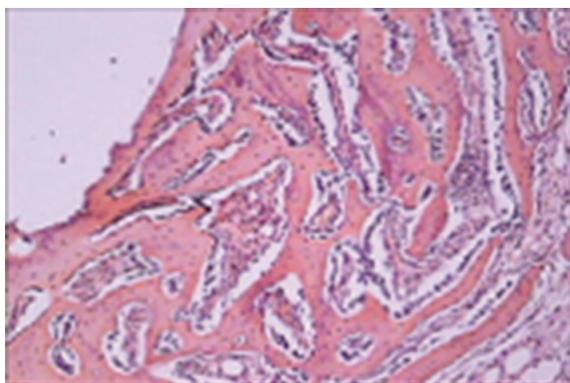


Fig. 3. Morphological features of peri-implant tissues in experimental animals of the first group at 2 weeks (H & E stain,  $\times 200$ )

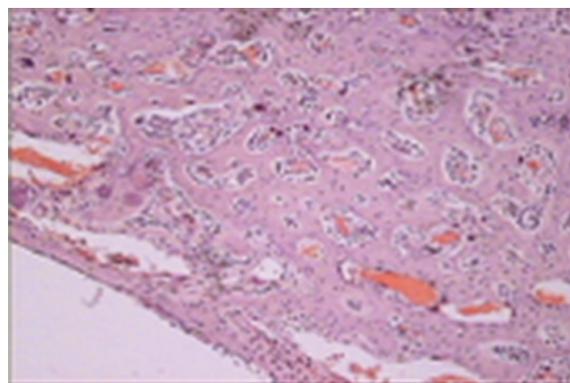


Fig. 4. Morphological features of peri-implant tissues in experimental animals of the second group at 2 weeks (H & E stain,  $\times 200$ )

Rabbit tibiae bone blocks containing dental implants were fixed in 10% neutral formalin for 48 hours. Decalcification was performed using EDTA with obligatory control of the process completeness with calcium oxalate. The implants were removed from bone after decalcification. Then washed in running water for 24 hours, dehydrated in alcohols of increasing concentration (70, 80, 96, absolute alcohol). The material carried through the alcohol-chloroform, chloroform, chloroform-paraffin and embedded in paraffin. The paraffin blocks were sectioned to 4–5 microns thick, which were stained with hematoxylin and eosin. The study of micropreparations and microphotographs was carried out at a magnification of 100 and 400 using Axio Imager (Zeiss) microscopes and using a DMLS microscope with software (Leica, Germany).

**Results and its discussion.** In 1 week after implantation in the first group of animals at the perimeter of the implant cavity areas of compact maternal bone, necrotic structureless masses and zones of bone matrix resorption could be defined. Small areas of granulation and reticular fibrous tissue were identified. Inter-trabecular spaces were filled with yellow bone marrow and small areas of red bone marrow with foci of necrosis. Necrotic death of single parent bone osteocytes, inflammatory infiltration in the periosteum and low blood vessels density was observed.

In the second group of animals the gap between the implant and regenerate was filled with connective tissue. Granulation tissue was more mature than in the control group, and was dominated by a fibrous component and blood capillaries (Fig. 1).

In the maternal bone resorption areas were filled with reticular fibrous tissue with a high density of osteogenic cells. Osteoblasts were single-row compact, maternal bone matrix had normal structure, osteocytes lie freely in bone lacunae, the number and shape of the Haversian canals were not changed.

In the third group of animals a connective tissue capsule formation, comprising of areas of reticular fibrous and granulation tissue, was observed throughout the implant cavity perimeter. Granulation tissue was replaced by reticular fibrous at considerable length of the perimeter of implant cavity (Fig. 2).

Granulation tissue was characterized by the presence of different diameter blood capillaries containing endothelial layer. Trabecular cavities were filled with bone marrow with high density of cells of fibroblastic differone. There were no necrotic areas.

Bone trabeculae were oriented at different angles and parallel to the surface of the implant. Inter-trabecular spaces were filled with reticular fibrous tissue with high osteoblastic density on the trabeculae surface. Not in all areas of newly formed bone osteogenic cells were observed, and coarse fibrous tissue dominated.

In the second group 2 weeks after implantation connective tissue capsule around implants formed mostly reticular fibrous newly formed bone and small areas of mature granulation tissue. The newly formed bone trabeculae were oriented for the most part parallel to the surface of the implant (Fig. 4).

In 2 weeks after implantation in the first group of animals peri-implant space was mostly occupied by a newly formed bone tissue, also small areas of granulation and dense fibrous tissue was determined (Fig. 3).

On the trabeculae surface single osteocytes and compactly situated osteoblasts were determined. In the inter-trabecular space areas of reticular fibrous tissue and red bone marrow with blood vessels was visualized.

In the third animal group, perimeter of the implant cavity is determined by newly formed bone tissue consisting of osteoid trabeculae forming marrow spaces (Fig. 5).

Inter-trabecular spaces are filled with reticular fibrous tissue and red bone marrow. Well distinguished are active osteoblasts on the trabeculae surface and osteocytes in the bone matrix. This marks the beginning of lamellar bone formation.

In 1 month after implantation, the animals of the first group were characterized by the presence of peri-implant reticular fibrous tissue, woven bone tissue, but with remaining small foci of granulation tissue, quite immature, multicellular and with low vascularity (Fig. 6).

Inter-trabecular spaces were filled with reticular fibrous tissue, areas of maternal bone trabeculae resorption and osteoclasts were visualized.

In the second group of rabbits at 1 month a significant thickening of the periosteum on the border with the implant is observed. Also an increasing proliferation of inner osteogenic layer of the periosteum and the formation of trabecular bone can be seen (Fig. 7).

In the newly formed bone the abundance of osteocytes in bone matrix and osteoblasts compactly arranged on the surface of bone trabeculae is observed.

In the third group of animals at 1 month was determined by newly formed predominately lamellar bone tissue throughout the implant cavity. Bone trabeculae oriented mainly parallel to the surface of the implant. A clear border connections are not traced to the parent bone. The Haversian cavities are filled with red bone marrow with functioning blood vessels.

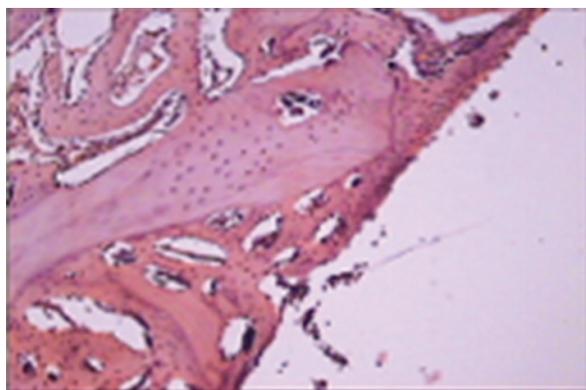


Fig. 5. Morphological features of peri-implant tissues in experimental animals of the third group after 2 weeks (H & E stain,  $\times 200$ )

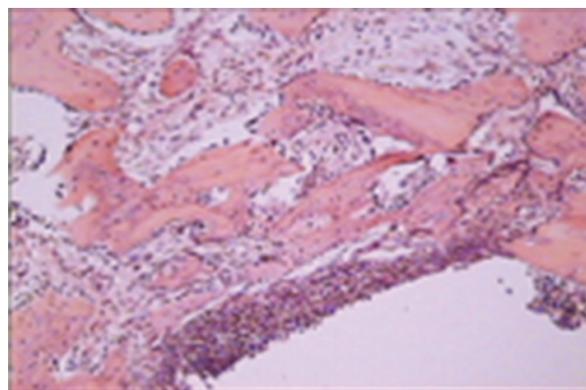


Fig. 6. Morphological features of peri-implant tissues in experimental animals of the first group at 1 month (H & E stain,  $\times 200$ )

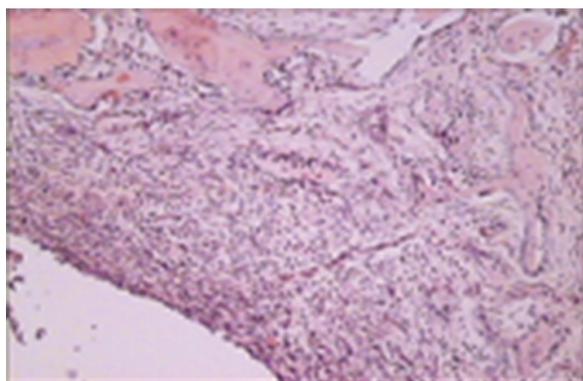


Fig. 7. Morphological features of peri-implant tissues in experimental animals of the second group at 1 month (H & E stain, ×200)

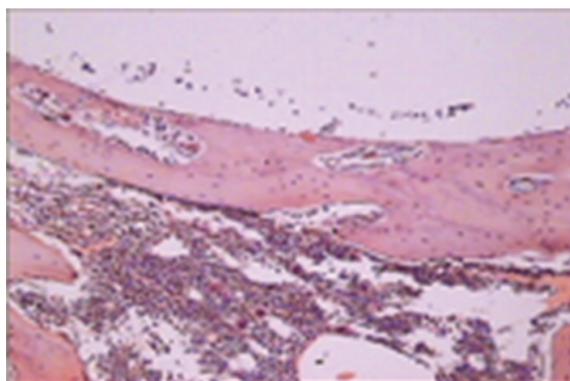


Fig. 8. Morphological signs of peri-implant tissues in experimental animals the first group after 2 months (H & E stain, ×200)

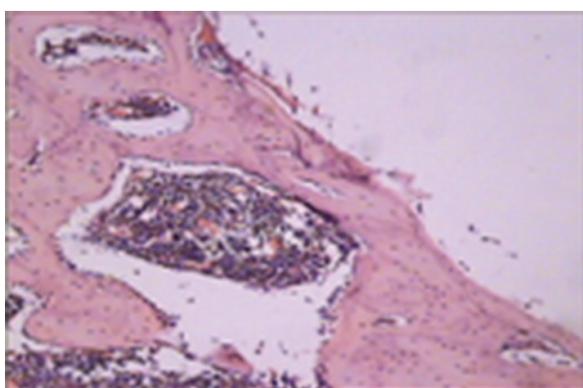


Fig. 9. Morphological signs of peri-implant tissues in experimental animals of the second group at 2 months (H & E stain, ×200)

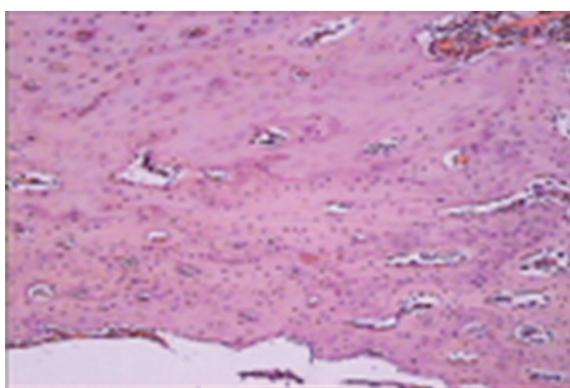


Fig. 10. Morphological signs of peri-implant tissues in experimental animals of the third group at 2 months (H & E stain, ×200)

After 2 months, in the second and third groups of animals compact bone with woven trabeculae and lamellar bone areas was observed. Newly formed osteons and areas of mature lamellar bone were identified. In peri-implant region vascular network with erythrocytes in the lumen of the newly formed blood vessels could be seen. Areas of reticular fibrous tissue were not present. In the first animal group peri-implant bone area was visually less than in the second and third groups (Fig. 8).

Woven bone areas with low density of osteogenic cells and areas of reticular fibrous tissue filling inter-trabecular spaces were observed. In the second group areas of lamellar bones prevailed over the newly formed woven bone (Fig. 9).

In the inter-trabecular spaces red bone marrow with numerous blood capillaries is visualized. The newly formed osteons and border with matrix bone can be seen. The animals of the third group for the most part had formed lamellar bone of normal histological structure around the perimeter of the implant cavity (Fig. 10).

There is a large number of osteocytes on the bone surface and red bone marrow in the inter-trabecular spaces. There is no border observed between newly-formed and matrix bone.

**Conclusion.** The processes of osseointegration of installed dental implants in all groups of animals take place without disturbing the staging. In the early stages granulation tissue is formed, and subsequently is being replaced by reticular fibrous, woven and more mature lamellar bone tissue in later stages. However, the timing and degree of maturation of bone tissue, as well as indicators of osseointegration in groups with low-intensity pulsed ultrasound and without differ significantly. So, in the first animal group bone maturation delay, presence of necrotic zones, immature granulation tissue,

matrix bone defects in the early stages, and the predominance of coarse-fibered bone tissue at a later date osteosynthesis is observed. Not indicated complete integration regenerate bone with the implant. Ultrasound application to implants in a second group of animals induces osteoreparation processes, stimulating angiogenesis in the granulation tissue and new bone formation. Dental implantation with subsequent ultrasound treatment on implants and the peri-implant tissues in the third group promotes the formation of bone tissue similar in histostructure to the parent bone in earlier stages. There is more complete and stronger integration of the newly formed bone with the implant surface than in the first group of animals.

**Conflict of interests.** The authors declare no conflict of interests.

## References

1. Branemark P.-I. Osseointegration and its experimental background. *Journal of Prosthetic Dentistry*, 1983, vol. 50, no. 3, pp. 399–410. [https://doi.org/10.1016/s0022-3913\(83\)80101-2](https://doi.org/10.1016/s0022-3913(83)80101-2)
2. Schenk R. K., Buser D. Osseointegration: a reality. *Periodontology 2000*, 1998, vol. 17, no. 1, pp. 22–35. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0757.1998.tb00120.x>
3. Cooper L. F., Masuda T., Yliheikkilä P. K., Felton D. A. Generalizations regarding the process and phenomenon of osseointegration. Part II. *In vitro* studies. *International Journal of Oral and Maxillofacial Implants*, 1998, vol. 13, no. 2, pp. 163–174.
4. Franchi M., Fini M., Martini D., Orsini E., Leonardi L., Ruggeri A., Giavaresi G., Ottani V. Biological fixation of endosseous implants. *Micron*, 2005, vol. 36, no. 7–8, pp. 665–671. <https://doi.org/10.1016/j.micron.2005.05.010>
5. Mavrogenis A. F., Dimitriou R., Parvizi J., Babis G. C. Biology of implant osseointegration. *Journal of Musculoskeletal and Neuronal Interactions*, 2009, vol. 9, no. 2, pp. 61–71.
6. Chappard D., Aguado E., Huré G., Grizon F., Basle M. F. The early remodeling phases around titanium implants: a histomorphometric assessment of bone quality in a 3- and 6-month study in sheep. *International Journal of Oral and Maxillofacial Implants*, 1999, vol. 14, no. 2, pp. 189–196.
7. Dyson M., Suckling J. Stimulation of tissue repair by ultrasound: a survey of the mechanisms involved. *Physiotherapy*, 1978, vol. 64, no. 4, pp. 105–108.
8. Khan Y., Laurencin C. T. Fracture repair with ultrasound: clinical and cell-based evaluation. *Journal of Bone and Joint Surgery-American*, 2008, vol. 90, suppl. 1, pp. 138–144. <https://doi.org/10.2106/jbjs.g.01218>
9. Novicoff W. M., Manaswi A., Hogan M. V., Brubaker S. M., Mihalko W. M., Saleh K. J. Critical analysis of the evidence for current technologies in bone-healing and repair. *Journal of Bone and Joint Surgery-American Volume*, 2008, vol. 90, suppl. 1, pp. 85–91. <https://doi.org/10.2106/jbjs.g.01521>
10. Rubnikovich S. P., Khomich I. S., Minchenya V. T. The use of low-frequency ultrasound in dental implantation (experimental study). *Stomatolog [Stomatologist]*, 2015, no. 4, pp. 21–24 (in Russian).
11. Rubnikovich S. P., Khomich I. S., Vladimirskaia T. E. Experimental substantiation of the application of the method of dental implantation using low-frequency ultrasound in patients with partial secondary adentia. *Problemy zdorov'ya i ekologii [Problems of health and ecology]*, 2015, no. 4, pp. 75–80 (in Russian).
12. Khomich I. S., Rubnikovich S. P. Dental implantation method using low intensity pulsed ultrasound in treatment of partially secondary edentulous patients. *Stomatolog [Stomatologist]*, 2015, no. 4, pp. 25–29 (in Russian).
13. Leung K. S., Cheung W. H., Zhang C., Lee K. M., Lo H. K. Low intensity pulsed ultrasound stimulates osteogenic activity of human periosteal cells. *Clinical Orthopaedics and Related Research*, 2004, vol. 418, pp. 253–259. <https://doi.org/10.1097/00003086-200401000-00044>
14. Pounder N. M., Harrison A. J. Low intensity pulsed ultrasound for fracture healing: a review of the clinical evidence and the associated biological mechanism of action. *Ultrasonics*, 2008, vol. 48, no. 4, pp. 330–338. <https://doi.org/10.1016/j.ultras.2008.02.005>
15. Tobita K., Ohnishi I., Matsumoto T., Ohashi S., Bessho M., Kaneko M., Matsuyama J., Nakamura K. Effect of low-intensity pulsed ultrasound stimulation on callus remodelling in a gap-healing model: evaluation by bone morphometry using three-dimensional quantitative micro-CT. *Journal of Bone and Joint Surgery. British volume*, 2011, vol. 93-B, no. 4, pp. 525–530. <https://doi.org/10.1302/0301-620x.93b4.25449>
16. Fomin N. A., Rubnikovich S. P., Bazylev N. B. New possibilities of investigating blood flow in soft tissues of the mouth]. *Inzhenerno-fizicheskii zhurnal [Journal of engineering physics and thermophysics]*, 2008, vol. 81, no. 3, pp. 508–517 (in Russian).
17. Rubnikovich S. P., Maizet A. I., Denisova Yu. L., Bykova I. N., Arutyunov A. V., Kopylova I. A., Avanesyan R. A. The effect of magnetophototherapy on morphological changes of tissues of pathologically changed periodontium. *Meditsinskii vestnik Severnogo Kavkaza = Medical news of North Caucasus*, 2017, vol. 12, no. 3, pp. 303–307.
18. Rubnikovich S. P., Denisova Yu. L., Vladimirskaia T. E., Andreeva V. A., Kvacheva Z. B., Panasenkova G. Yu., Volotovskii I. D. Regenerative cell technologies for gingival recession treatment. *Sovremennye tekhnologii v meditsine = Modern technologies in medicine*, 2018, vol. 10, no. 4, pp. 94–104 (in Russian).

### Information about the authors

*Sergey P. Rubnikovich* – D. Sc. (Med.), Professor, Head of the Department. Belarusian Medical Academy of Postgraduate Education (3/3, Brovki Str., 220013, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: rubnikovichs@mail.ru

*Ilya S. Khomich* – Ph. D. (Med.), Assistant Professor. Belarusian Medical Academy of Postgraduate Education (3/3, Brovki Str., 220013, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: ilya.khomich@gmail.com

*Yuliya L. Denisova* – D. Sc. (Med.), Professor. Belarusian State Medical University (83, Dzerzhinski Ave., 220116, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: denisova-yul@mail.ru

### Информация об авторах

*Рубникович Сергей Петрович* – д-р мед. наук, профессор, заведующий кафедрой. Белорусская медицинская академия последипломного образования (ул. П. Бровки, 3/3, 220013, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: rubnikovich@mail.ru

*Хомич Илья Станиславович* – канд. мед. наук, доцент. Белорусская медицинская академия последипломного образования (ул. П. Бровки, 3/3, 220013, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: ilya.khomich@gmail.com

*Денисова Юлия Леонидовна* – д-р мед. наук, профессор. Белорусский государственный медицинский университет (пр. Дзержинского, 83, 220116, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: denisova-yul@mail.ru

ISSN 1814-6023 (Print)

ISSN 2524-2350 (Online)

УДК 612.556:612.56:616-092

<https://doi.org/10.29235/1814-6023-2020-17-1-28-37>

Поступила в редакцию 20.11.2019

Received 20.11.2019

**Ф. И. ВИСМОНТ, А. Ф. ВИСМОНТ**

*Белорусский государственный медицинский университет, Минск, Республика Беларусь*

## **ФОРМИРОВАНИЕ «УСТАНОВОЧНОГО» УРОВНЯ РЕГУЛЯЦИИ ТЕМПЕРАТУРЫ ТЕЛА ПРИ ЭНДОТОКСИНОВОЙ ЛИХОРАДКЕ**

**Аннотация.** В опытах на крысах и кроликах с использованием современных физиологических, биохимических методов исследования и фармакологического подхода установлено, что действие в организме бактериального эндотоксина, сопровождающееся лихорадкой, приводит к значительному снижению в плазме крови и ликворе содержания аргинина. Обнаружено, что через 30 мин после внутривенного введения кроликам меченного по углероду аргинина солянокислого (25 мКи/кг) на пике эндотоксина лихорадки (через 60 мин после инъекции эндотоксина *E. coli*) происходит понижение уровня радиоактивности в плазме крови и значительное увеличение его в ликворе и ткани гипоталамуса. Выявлено, что, несмотря на то что содержание и скорость оборота норадреналина в гипоталамусе после введения в желудочки мозга крыс L-аргинина солянокислого (100 мкг) не изменяются по сравнению с таковыми у контрольных животных, хемореактивные свойства терморегуляторных структур мозга меняются, что проявляется в изменении выраженности и длительности терморегуляторных эффектов центрального действия норадреналина и ацетилхолина. Установлено, что введение L-аргинина солянокислого в желудочки мозга в дозе 100 мкг на животное или в кровотоки в дозе 20 мг/кг оказывает выраженное антипиретическое действие. Обнаружено, что L-аргинин солянокислый (100 мкг) после введения в желудочки мозга стимулирует увеличение импульсной активности теплочувствительных нейронов медиальной преоптической области переднего гипоталамуса у кроликов, вызываемое повышением температуры мозга при перегревании тела животного. По-видимому, аргинин ликвора может рассматриваться как важный фактор изменения порогов возбудимости холодо- и теплочувствительных нейронов в гипоталамусе и формирования «установочного» уровня регуляции температуры тела при эндотоксина лихорадке.

**Ключевые слова:** эндотоксина лихорадка, гипоталамус, хемореактивные свойства нейронов, аргинин, температура тела

**Для цитирования:** Висмонт, Ф. И. Формирование «установочного» уровня регуляции температуры тела при эндотоксина лихорадке / Ф. И. Висмонт, А. Ф. Висмонт // Вест. Нац. акад. наук Беларуси. Сер. мед. наук. – 2020. – Т. 17, № 1. – С. 28–37. <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2020-17-1-28-37>

**Frantishek I. Vismont, Arvid F. Vismont**

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

## **FORMATION OF THE “SETTING” LEVEL OF BODY TEMPERATURE REGULATION DURING ENDOTOXIN FEVER**

**Abstract.** The experiments on rats and rabbits using modern physiological, biochemical research methods and the pharmacological approach established that in the body, the action of bacterial endotoxin, accompanied by fever, leads to a significant decrease in blood plasma and in CSF of the arginine content. In rabbits after 30 min intravenous administration of carbon-labeled arginine hydrochloride (25  $\mu$ Ci/kg) at the endotoxin fever peak (after the 60 min injection of endotoxine *E. coli*), the radioactivity level in the blood plasma decreases and significantly increases in the cerebrospinal fluid and the hypothalamus tissue. It was revealed that although the content and speed of norepinephrine turnover in the hypothalamus after the introduction of L-arginine hydrochloride (100  $\mu$ g) into the ventricles of the rats does not change in comparison with control animals, however, the chemoreactive properties of the thermoregulatory structures of the brain have changed, which manifests itself in the change in the expression and duration of thermoregulatory effects of the central action of norepinephrine and acetylcholine. It was established that the administration of L-arginine hydrochloride into the brain ventricles at a dose of 100  $\mu$ g per animal or in the blood flow at a dose of 20 mg/kg caused the pronounced antipyretic effect. It was found that L-arginine hydrochloride (100  $\mu$ g), after it has been introduced into the ventricles of the brain, increases the impulse activity of heat-sensitive neurons of the medial preoptic region of the anterior hypothalamus in rabbits due to a brain temperature growth when the animal's body is overheated. Apparently, CSF arginine can be considered as an important factor in the changes in the excitability thresholds of cold and heat-sensitive neurons in the hypothalamus and in the formation of the “set-point” of body temperature regulation during endotoxin fever.

**Keywords:** endotoxin fever, hypothalamus, chemoreactive properties of neurons, arginine, body temperature

**For citation:** Vismont F. I., Vismont A. F. Formation of the “setting” level of body temperature regulation during endotoxin fever. *Vesti Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seriya meditsinskikh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2020, vol. 17, no. 1, pp. 28–37 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2020-17-1-28-37>

**Введение.** Лихорадка – один из сложнейших процессов, часто встречающихся при патологии у высших гомойотермных животных и человека.

Лихорадочная реакция организма характеризуется не только изменениями в процессах теплообмена и значительным повышением температуры тела, но и изменением деятельности нервных центров и активности функциональных систем организма [1–5]. Принято считать, что смещение (изменение) «установочного» уровня, уровня установочной точки (set point) температурного гомеостаза на более высокий уровень (например, с 37 до 38–41 °С) является центральным звеном в патогенезе лихорадки [2, 4, 5]. Полагают, что этот механизм реализуется за счет изменения порогов возбудимости термочувствительных («холодовых» и «тепловых») нейронов медиальной преоптической области переднего гипоталамуса к температуре крови и афферентации от «холодовых» и «тепловых» терморцепторов организма. В результате изменения порогов возбудимости «холодовых» и «тепловых» нейронов гипоталамической области мозга в центрах терморегуляции чувствительность этих терморегуляторных нейронов к афферентной импульсации от «холодовых» и «тепловых» рецепторов изменяется таким образом, что нормальную температуру крови, интерстициальной жидкости и нормальную афферентацию от терморцепторов центр воспринимает как сигнал охлаждения, в результате чего повышается активность холодочувствительных и угнетается активность теплочувствительных нейронов переднего гипоталамуса, включаются механизмы теплорегуляции, направленные на повышение температуры организма. Согласно современным представлениям, вот эти повышение биоэлектрической активности холодочувствительных нейронов и снижение активности теплочувствительных нейронов гипоталамической области мозга лежат в основе функциональной перестройки в центре терморегуляции, наблюдающейся при раздражении его клеточно-тканевыми (вторичными) пирогенами, так называемыми «медиаторами» лихорадки, идентифицированными как цитокины (интерлейкин-1β, интерлейкин-6). Полагают, что эти изменения порогов термочувствительности холодо- и теплочувствительных нейронов переднего гипоталамуса под влиянием вторичных пирогенов и определяют на нейрональном уровне смещение вверх «установочного» уровня регулируемого температурного гомеостаза при лихорадке. Такие представления нашли отражение в обзорах, посвященных проблемам нейрофизиологии лихорадочной реакции и механизмам ее развития [2–4, 6–10].

Известно, что определяющую роль в центральных механизмах регуляции температуры тела играют нейромедиаторные системы гипоталамуса, в частности адренореактивные, при лихорадке [3, 11–13]. В научной литературе много внимания уделено роли пептидов и простагландинов группы E в регуляции функционального состояния ЦНС и активности нейромедиаторных систем мозга в центрах терморегуляции при лихорадке [3, 6, 14–16]. Высказано предположение, что эндогенные пирогены реализуют свой эффект путем высвобождения эндотелиоцитами простагландинов группы E, которые оказывают непосредственное действие на терморегуляторные нейроны гипоталамуса [3, 15, 16]. Эта идея была подкреплена данными о том, что во время лихорадки в спинномозговой жидкости увеличивается количество простагландинов группы E, а также демонстрацией того, что жаропонижающее действие таких препаратов, как аспирин, проявляется угнетением процессов образования простагландинов [15, 16]. Однако роль простагландинов группы E в механизмах лихорадки до конца еще не выяснена. Оказалось, что блокада простагландиновых рецепторов в центрах терморегуляции не устраняет эндотоксиновую лихорадку [17]. Таким образом, имеющиеся сведения еще не раскрывают в достаточной мере значение нейромедиаторных систем мозга и модуляторов их активности в регуляции температуры тела.

Несмотря на то что накоплен большой экспериментальный материал об участии в центральных механизмах терморегуляции целого ряда физиологически активных веществ, в частности

регуляторов нейрохимических процессов в центрах терморегуляции [4, 5, 10, 14, 16, 18], до сих пор нет полного понимания нейрохимических механизмов формирования «установочной» точки терморегуляции при лихорадке.

Результаты многочисленных исследований последних лет свидетельствуют об участии монооксида азота (NO), основным субстратом для образования которого является аминокислота L-аргинин [19–21], в процессах жизнедеятельности в норме и при патологии и в механизмах регуляции температуры тела [22–24]. Установлено, что агентами, ответственными за индукцию синтеза NO в гепатоцитах, являются ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-6 и ФНО- $\alpha$  – предполагаемые на сегодняшний день основные «медиаторы» воспаления и лихорадки [4, 5, 7, 10, 25], во многом определяющие резистентность организма к факторам внешней и внутренней среды и поддержание температурного гомеостаза. Имеются сведения, что изменение уровней тиреоидных гормонов в крови, процессов детоксикации и теплообразования при гипертермии и эндотоксиновой лихорадке тесно связано с продукцией NO в организме [26–28]. В то же время остается открытым вопрос о роли L-аргинина в этих процессах.

Цель исследования – выяснить значимость L-аргинина в центральных нейромедиаторных механизмах терморегуляции и в формировании «установочного» уровня регуляции температуры тела при эндотоксиновой лихорадке.

**Материалы и методы исследования.** Опыты выполнены на ненаркотизированных белых крысах обоего пола массой 160–180 г и взрослых кроликах обоего пола массой 2,5–3,0 кг. Животные содержались в условиях вивария Белорусского государственного медицинского университета в соответствии с нормативами индивидуального размещения и получали полноценный пищевой рацион – комбикорм КК-92/ПХЧ-5, количество которого определялось Нормами кормления лабораторных животных [29]. Питательный режим соответствовал принципу *ad libitum*.

Эксперименты выполняли в соответствии с этическими нормами обращения с лабораторными животными, а также с требованиями Директивы Европейского этического комитета 86/609/ЕЕС от 24.11.1986 г., Европейской Конвенции о защите позвоночных животных, используемых в экспериментальных и других научных целях, от 18.03.1986 г. и ТКП 125-2008 «Надлежащая лабораторная практика», утвержденным постановлением Министерства здравоохранения Республики Беларусь № 56 от 28.03.2008 г.

В связи с тем что в литературе имеются данные о том, что у животных в течение суток происходят значительные колебания уровня ряда гормонов и биогенных аминов в крови, которые сопровождаются изменениями в энергетическом и пластическом обмене, опыты проводили в строго определенное время (8.00–12.00) и в термонеutralных условиях (20–22 °С). При выполнении работы особое внимание уделяли шумовому режиму содержания животных, так как высокий уровень шума способствует развитию стресса у крыс.

Для создания общепринятой модели эндотоксиновой лихорадки использовали бактериальный липополисахарид (ЛПС) – эндотоксин *E. coli* (серия 0111:B4 Sigma, США), который вводили однократно: крысам – внутривентриально, кроликам – в краевую вену уха.

Для оценки вегетативных показателей в процессе развития лихорадки наряду с определением частоты дыхания осуществляли регистрацию частоты сердечных сокращений (ЧСС). Частоту дыхания фиксировали с помощью угольной манжетки и регистрировали на 4-канальном чернильнопишущем электрокардиографе в определенные интервалы времени. ЧСС контролировали с помощью ЭКГ.

Забор крови и ткани гипоталамуса у животных производили за возможно минимальное время после декапитации. Ткань гипоталамуса замораживали в жидком азоте и хранили до использования при температуре –15 °С. Для выделения гипоталамуса при температуре 0–+4 °С использовали метод J. Glowinsky с соавт. [30].

Содержание катехоламинов норадреналина и дофамина в гипоталамической области мозга определяли спектрофлуориметрическим методом [31]. Для изучения скорости оборота норадреналина в ткани гипоталамуса применяли ингибитор тирозингидроксилазы  $\alpha$ -метил-п-тирозин (250 мг/кг) и ингибитор моноаминоксидазы паргелин (внутрибрюшинные инъекции, 75 мг/кг).

Количественное содержание свободных аминокислот в плазме крови крыс и спинномозговой жидкости у кроликов определяли методом обращенно-фазной жидкостной хроматографии на аналитической колонке Zorbax Eclipse XDB-C<sub>8</sub> [32].

Для изменения активности центральных нейромедиаторных систем использовали холино- и адреномиметики, а также аминокислоту L-аргинин, водные растворы которых вводили однократно: крысам – под местной анестезией (5 %-ный новокаин, подкожно) в правый боковой желудочек мозга в объеме 20 мкл или 0,2 мл в боковую вену хвоста; кроликам – в полость правого бокового желудочка через вживленные химиотроды в объеме, не превышающем 50 мкл, или 1,0 мл в краевую вену уха. При изучении влияния L-аргинина на показатели терморегуляции кроликам внутривенно, а крысам внутривентально вводили раствор L-аргинина гидрохлорида (Carl Roth GmbH+Co.KG, Германия).

Опыты с регистрацией импульсной активности нейронов мозга выполняли на кроликах под хлоралозо-уретановым наркозом (60/600 мг/кг, внутривентально). Нейронную активность регистрировали внеклеточно, применяя вольфрамовые микроэлектроды с диаметром кончика 1–3 мкм. Отведения осуществляли от нейронов переднего гипоталамуса по координатам A<sub>3</sub>L<sub>1,5</sub>N<sub>14</sub> [33]. Эффекты веществ оценивали по изменению текущей частоты разрядов нейрона, которые регистрировали с помощью анализатора АМГ-1 каждые 4 с.

Для изучения распределения <sup>14</sup>C-аргинина солянокислого между кровью, ликвором и структурами головного мозга меченую аминокислоту вводили в краевую вену уха кроликам (25 мкКи/кг) на пике лихорадки, вызываемой ЛПС. Через 30 мин после введения меченного по углероду аргинина животных декапитировали. Величину радиоактивности в пробах определяли при помощи сцинтилляционного счетчика LS-1801 фирмы Beckman (США).

Температуру кожи уха у кроликов, как и ректальную температуру у крыс и кроликов (в прямой кишке на глубине 3,0 и 5,0 см соответственно) измеряли с помощью электротермометра ТПЭМ-1. В ряде опытов регистрацию глубокой температуры тела у бодрствующих крыс осуществляли при помощи телеметрической установки Mini Mitter (модель 4000, США).

Эксперименты на крысах и кроликах проводили в соответствии с этическими нормами обращения с животными. Полученные цифровые данные обработаны общепринятыми методами вариационной биологической статистики с помощью критерия Стьюдента. Все данные представлены в виде среднего арифметического и стандартной ошибки среднего арифметического ( $\bar{X} \pm S_x$ ). Достоверность результатов учитывали при  $p < 0,05$ .

**Результаты и их обсуждение.** В опытах установлено, что внутривентальное введение крысам ( $n = 12$ ) бактериального эндотоксина (ЛПС) в дозе 5,0 мкг/кг приводит к медленному повышению температуры тела и слабо выраженной гипертермии. Температура тела повышалась на 1,3; 1,2; 1,8; 1,2 и 0,7 °C ( $p < 0,001$ ) через 120, 180, 240, 300 и 330 мин после инъекции эндотоксина и составляла  $38,9 \pm 0,11$ ;  $38,8 \pm 0,12$ ;  $39,4 \pm 0,10$ ;  $38,8 \pm 0,13$  и  $38,3 \pm 0,12$  °C соответственно. Введение в кровоток ЛПС (0,5 мкг/кг) кроликам ( $n = 9$ ) приводило к быстрому и значительному повышению ректальной температуры, которая через 30, 60, 120 и 180 мин после введения ЛПС возрастала на 0,6; 1,3; 1,6; и 1,2 °C ( $p < 0,001$ ) и составляла соответственно  $39,2 \pm 0,12$ ;  $39,9 \pm 0,10$ ;  $40,2 \pm 0,11$  и  $39,8 \pm 0,12$  °C.

Выявлено, что в развитии сдвигов в эффекторных процессах, а также в гуморальных и гормональных механизмах регуляции теплообмена при эндотоксиновой лихорадке значительная роль принадлежит снижению активности центральных адренореактивных систем, в частности  $\alpha$ -адренореактивных, гипоталамической области мозга [12, 13, 34, 35].

Обнаружено, что характер изменений в процессах теплообмена, их нейромедиаторной, гормональной и гуморальной регуляции в условиях развития эндотоксинемии во многом обусловлен снижением уровня аргинина в плазме крови и ликворе [34, 35]. В условиях эндотоксиновой лихорадки (через 120 мин после инъекции ЛПС) в плазме крови крыс ( $n = 7$ ) содержание аминокислоты аргинина снижалось на 32,4 % ( $p < 0,02$ ) и составляло  $163,5 \pm 12,96$  мкмоль/л. Опыты, выполненные на ненаркотизированных кроликах, показали, что введение в кровоток ЛПС приводит к снижению (через 60 мин после инъекции) содержания свободной аминокислоты арги-

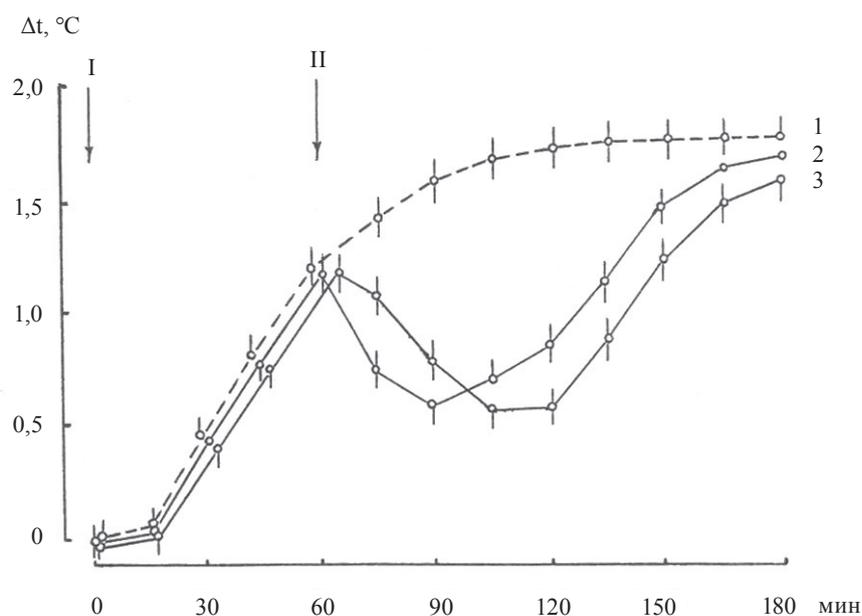


Рис. 1. Изменение температуры тела у кроликов под влиянием аргинина солянокислого в условиях эндотоксической лихорадки: 1 – ЛПС + бидист. вода ( $n = 20$ ); 2 – ЛПС + аргинин-НСl (100 мкг в желудочки мозга) ( $n = 10$ ); 3 – ЛПС + аргинин-НСl (20 мг/кг внутривенно) ( $n = 16$ ), где  $n$  – число опытов. I (стрелка) – момент внутривенного введения ЛПС (0,5 мкг/кг); II (стрелка) – момент введения в желудочки мозга или в кровоток препарата или бидист. воды (в контроле)

Fig. 1. Body temperature change in rabbits under the influence of arginine hydrochloride in the endotoxin fever conditions: 1 – LPS + bidist. water ( $n = 20$ ); 2 – LPS + arginine-HCl (100 μg, introduction into the ventricles of the brain) ( $n = 10$ ); 3 – LPS + arginine-HCl (20 mg/kg intravenously) ( $n = 16$ ), where  $n$  is the number of trials. I (arrow) – the moment of intravenous LPS injection (0.5 μg/kg); II (arrow) – the moment of introduction of a drug or bidist. water (control group) into the brain ventricles or into the blood flow

нина как в плазме крови (с  $264 \pm 16,4$  до  $115 \pm 23,5$  мкмоль/л;  $p < 0,05$ ), так и в спинномозговой жидкости (с  $44,7 \pm 4,5$  до  $11,2 \pm 6,3$  мкмоль/л,  $p < 0,05$ ).

Учитывая, что при эндотоксической лихорадке имеет место значительное снижение содержания аргинина в крови и ликворе кроликов и в плазме крови крыс, можно было предположить, что аргинин плазмы крови и ликвора участвует в центральных механизмах терморегуляции при бактериальной эндотоксинемии, сопровождающейся лихорадкой. Для уточнения данного предположения нами было изучено влияние на температуру тела, некоторые эффективные процессы и механизмы терморегуляции аминокислоты аргинина как при центральном, так и при системном введении.

Как видно из графических данных, представленных на рис. 1, введение L-аргинина солянокислого в желудочки мозга в дозе 100 мкг на животное или в кровоток в дозе 20 мг/кг в условиях развивающейся лихорадки (через 60 мин после внутривенного введения ЛПС в дозе 0,5 мкг/кг) оказывает выраженный антипиретический эффект, который сопровождается угнетением теплопродукции (снижением ЧСС, угнетением липолиза и т. д.) и усилением теплоотдачи (полипноэ, вазодилатация поверхностных сосудов). После инъекции в желудочки мозга крыс и кроликов L-аргинина солянокислого в дозах 50 и 100 мкг на особь температура тела интактных животных в термонеutralных условиях (20–24 °C) не изменялась.

В серии исследований, проведенных с целью выяснения центральных механизмов антипиретического действия аминокислоты аргинина, нами установлено, что, несмотря на то что содержание и скорость оборота норадреналина в гипоталамусе после введения в желудочки мозга крыс аргинина солянокислого в дозе 100 мкг достоверно не изменяются по сравнению с таковыми у животных в контроле, хемореактивные свойства терморегуляторных структур мозга меняются, что проявляется в изменении выраженности и длительности терморегуляторных эффектов центрального действия норадреналина и ацетилхолина. Опыты на крысах показали, что при

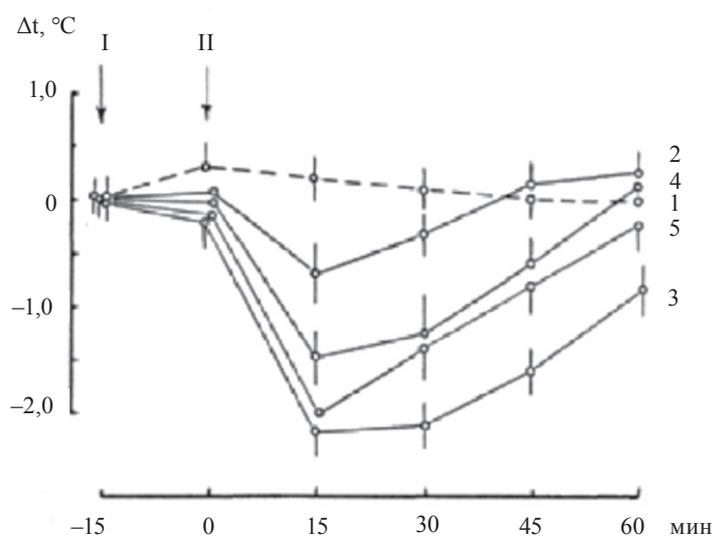


Рис. 2. Изменение температуры тела у крыс под влиянием центрального действия нейромедиаторов в условиях предварительного введения в желудочки мозга аргинина солянокислого: 1 – аргинин-НСl + бидист. вода ( $n = 8$ ); 2 – бидист. вода + норадреналин (10 мкг) ( $n = 9$ ); 3 – бидист. вода + ацетилхолин (2,5 мкг) с эзеринем (5 мкг) ( $n = 8$ ); 4 – аргинин-НСl + норадреналин (10 мкг) ( $n = 9$ ); 5 – аргинин-НСl + ацетилхолин (2,5 мкг) с эзеринем (5 мкг) ( $n = 9$ ), где  $n$  – число животных в опыте. I (стрелка) – момент введения в желудочки мозга аргинина-НСl (100 мкг) или бидист. воды (в контроле); II (стрелка) – момент введения в желудочки мозга нейромедиаторов или бидист. воды (в контроле)

Fig. 2. Body temperature change in rats under the influence of the central action of neurotransmitters in the conditions of preliminary introduction of arginine hydrochloride into the ventricles of the brain: 1 – arginine-HCl + bidist. water ( $n = 8$ ); 2 – bidist. water + norepinephrine (10 mg) ( $n = 9$ ); 3 – bidist. water + acetylcholine (2.5 mg) with eserine (5 mg) ( $n = 8$ ); 4 – arginine-HCl + norepinephrine (10 mg) ( $n = 9$ ); 5 – arginine-HCl + acetylcholine (2.5 mg) with eserine (5 mg) ( $n = 9$ ), where  $n$  is the number of animals in the experiment. I (arrow) – the moment of introduction of arginine-HCl (100 mg) or bidist. water (control group) into the brain ventricles. II (arrow) – the moment of introduction of neurotransmitters or the bidist. water (control group) into the brain ventricles

центральном действии L-норадреналина в дозе 10 мкг в условиях предварительного введения (за 15 мин) в желудочки мозга L-аргинина солянокислого в дозе 100 мкг на животное отмечается более выраженное и более продолжительное понижение температуры тела по сравнению с контролем, в то время как длительность и выраженность гипотермического эффекта от введения в желудочки мозга ацетилхолина в дозе 2,5 мкг с эзеринем (5 мкг) уменьшались (рис. 2).

Полученные данные свидетельствуют о том, что в основе одного из механизмов жаропонижающего действия аргинина лежит изменение адрено- и холинореактивных свойств церебральных нейронов и, в частности, повышение чувствительности адренорецепторов мозга к норадреналину. Учитывая, что в самих нейронах преоптической области переднего гипоталамуса прямая тепловая рецепция преобладает над холодовой и что активность теплочувствительных нейронов переднего гипоталамуса играет ведущую роль в центральных пусковых механизмах теплоотдачи, обеспечивающих понижение температуры тела, представляло интерес изучить влияние L-аргинина на активность теплочувствительных нейронов медиальной преоптической области переднего гипоталамуса у кроликов.

В специальной серии исследований установлено, что аргинин солянокислый в дозе 100 мкг при введении в желудочки мозга стимулирует увеличение импульсной активности теплочувствительных нейронов переднего гипоталамуса у кроликов, вызываемое повышением температуры мозга при нагревании тела животного. Введение в желудочки мозга кроликам L-аргинина солянокислого (100 мкг) при температуре мозга 35 °C приводило к значительному повышению (до 186,2 %) частоты импульсации всех 8 изученных нейронов.

С целью выяснения вопроса, обусловлен ли антипиретический эффект L-аргинина солянокислого при его центральном введении на пике эндотоксиновой лихорадки действием аминокислоты на терморегуляторные центры, нами изучен вопрос о распределении радиоактивности

между кровью, ликвором и тканями терморегуляторных структур мозга в условиях эндотоксической лихорадки после введения в кровоток меченного по углероду аргинина солянокислого. Опыты показали, что через 30 мин после внутривенного введения кроликам  $^{14}\text{C}$ -аргинина солянокислого (25 мкКи/кг) на пике эндотоксической лихорадки (через 60 мин после инъекции ЛПС) происходит понижение (по сравнению с показателем в контрольной группе) уровня радиоактивности (на 28,9 %,  $n = 8$ ,  $p < 0,05$ ) в плазме крови, повышение его в спинномозговой жидкости (до 253 %,  $n = 7$ ,  $p < 0,02$ ) и в ткани гипоталамуса (до 150 %,  $n = 8$ ,  $p < 0,05$ ).

Полученные данные дали основания полагать, что в условиях бактериальной эндотоксинеми, сопровождающейся лихорадкой, идет усиленная утилизация из крови свободного аргинина тканями гипоталамуса, т. е. ведущей терморегуляторной структурой мозга.

**Заключение.** Таким образом, результаты проведенных исследований, имеющих целью выяснить значимость аргинина в центральных нейромедиаторных механизмах регуляции температуры тела при эндотоксической лихорадке, свидетельствуют о том, что аргинин в центральной нервной системе принимает участие в механизмах регуляции температуры тела при действии в организме эндотоксина и является одним из факторов, ограничивающих выраженность лихорадочной реакции.

Если принять во внимание тот факт, что при действии в организме эндотоксина в плазме крови и ликворе значительно снижается, а в тканях гипоталамуса повышается содержание аргинина и что в этих условиях импульсная активность теплочувствительных нейронов переднего гипоталамуса и хемореактивные свойства терморегуляторных структур гипоталамической области мозга меняются, что проявляется в изменении выраженности и длительности терморегуляторных эффектов центрального действия норадреналина и ацетилхолина, то аргинин, по-видимому, может рассматриваться как важный фактор изменения порогов возбудимости холодо- и теплочувствительных нейронов в гипоталамусе, а соответственно, и как фактор формирования «установочного» уровня регуляции температуры тела при эндотоксической лихорадке.

Использование при вмешательстве в центральные нейрохимические процессы фармакологических веществ, способных направленно изменять содержание аргинина в плазме крови и ликворе, позволит эффективно корректировать процессы теплообмена, эндогенного антипиреза при лихорадке и повышать устойчивость организма к действию пирогенных факторов.

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

#### Список использованных источников

1. Веселкин, П. Н. Лихорадка / П. Н. Веселкин. – М. : Медгиз, 1963. – 375 с.
2. Гурин, В. Н. Механизмы лихорадки / В. Н. Гурин. – Минск : Наука и техника, 1993. – 165 с.
3. Feldberg, W. Body temperature and fever: changes in our views during last decade / W. Feldberg // Proc. Royal Soc. Lond. Ser. B: Biol. Sci. – 1975. – Vol. 191, N 1103. – P. 199–229. <https://doi.org/10.1098/rspb.1975.0124>
4. Blomqvist, A. Neural mechanisms of inflammation-induced fever / A. Blomqvist, D. Engblom // Neuroscientist. – 2018. – Vol. 24, N 4. – P. 381–399. <https://doi.org/10.1177/1073858418760481>
5. Anochi, P. I. Mechanisms of fever in humans / P. I. Anochi // Int. J. Microbiol. Immunol. Res. – 2013. – Vol. 2, N 5. – P. 037–043.
6. Dinarello, C. A. Infection, fever, and exogenous and endogenous pyrogens: some concepts have changens / C. A. Dinarello // J. Endotoxin Res. – 2004. – Vol. 10, N 4. – P. 201–222. <https://doi.org/10.1177/09680519040100040301>
7. The pathophysiological basis and consequences of fever / E. J. Walter [et al.] // Crit. Care. – 2016. – Vol. 20, N 1. – Art. 200. <https://doi.org/10.1186/s13054-016-1375-5>
8. Prajitha, N. Pyrogens, a polypeptide produces fever by metabolic changes in hypothalamus: mechanisms and detections / N. Prajitha, S. S. Athira, P. V. Mohanan // Immunol. Lett. – 2018. – Vol. 204. – P. 38–46. <https://doi.org/10.1016/j.imlet.2018.10.006>
9. Делягин, В. Патогенез лихорадки и патогенетически обоснованный выбор антипиретических средств / В. Делягин // Врач. – 2016. – № 12. – С. 67–71.
10. Tansey, E. A. Recent advances in thermoregulation / E. A. Tansey, C. D. Johnson // Adv. Physiol. Educ. – 2015. – Vol. 39, N 3. – P. 139–148. <https://doi.org/10.1152/advan.00126.2014>
11. Гурин, В. Н. Терморегуляция и симпатическая нервная система / В. Н. Гурин. – Минск : Наука и техника, 1989. – 231 с.
12. Висмонт, Ф. И. О роли центральных адренореактивных систем в механизмах антипиретического действия акупунктуры при эндотоксической лихорадке у кроликов / Ф. И. Висмонт, Е. А. Третьякович // Мед. журн. – 2007. – № 4. – С. 45–47.

13. Висмонт, Ф. И. Роль центральных адренореактивных систем в регуляции липидного обмена у животных в условиях перегревания и простагландиновой лихорадки / Ф. И. Висмонт // *Здравоохранение Беларуси*. – 1981. – № 9. – С. 61–62.
14. Clark, W. G. Brain and pituitary peptides in thermoregulation / W. G. Clark, J. M. Lipton // *Pharmacol. Ther.* – 1983. – Vol. 22, N 2. – P. 249–297. [https://doi.org/10.1016/0163-7258\(83\)90006-2](https://doi.org/10.1016/0163-7258(83)90006-2)
15. Milton, A. S. Prostaglandin E<sub>1</sub> and endotoxin fever and the effects of aspirin, indomethacin and 4-acetamidophenol / A. S. Milton // *Adv. Biosciens.* – 1972. – Vol. 9. – P. 495–500.
16. Milton, A. S. Effects on body temperature of prostaglandins of the A, E and F series on injection into the third ventricle of unanaesthetized cats and rabbits / A. S. Milton, S. Wendlandt // *J. Physiol.* – 1971. – Vol. 218, N 2. – P. 325–336. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.1971.sp009620>
17. Cranston, W. Central mechanisms of fever / W. Cranston // *Fed. Proc.* – 1979. – Vol. 36, N 1. – P. 49–51.
18. Гурин, В. Н. Терморегуляция и биологически активные вещества крови / В. Н. Гурин, А. В. Гурин. – Минск : Бизнесофсет, 2004. – 216 с.
19. Getz, G. S. Arginine/arginase NO NO NO / G. S. Gets, C. A. Reardon // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* – 2006. – Vol. 26, N 2. – P. 237–240. <https://doi.org/10.1161/01.ATV.0000202014.54609.9d>
20. Wu, G. Arginine metabolism: nitric oxide and beyond / G. Wu, S. M. Jr. Morris // *Biochem. J.* – 1998. – Vol. 336, N 1. – P. 1–17. <https://doi.org/10.1042/bj3360001>
21. Дмитренко, Н. П. Аргинин: биологическое действие, влияние на синтез оксида азота / Н. П. Дмитренко, Т. О. Кишко, С. Г. Шандренко // *Укр. хіміотерапевт. журн.* – 2008. – № 1/2. – С. 137–141.
22. Scibior, D. Arginine – metabolism and functions in the human organism / D. Scibior, H. Czczot // *Postepy Hig. Med. Dosw.* – 2004. – Vol. 58. – P. 321–332.
23. Gerstberger, R. Nitric oxide and body temperature control / R. Gerstberger // *News Physiol. Sci.* – 1999. – Vol. 14, N 1. – P. 30–36. <https://doi.org/10.1152/physiologyonline.1999.14.1.30>
24. Гурин, А. В. Функциональная роль оксида азота в центральной нервной системе / А. В. Гурин // *Успехи физиол. наук*. – 1997. – Т. 28, № 1. – С. 53–58.
25. Dinarello, C. A. The proinflammatory cytokines interleukin-1 and tumor necrosis factor and treatment of the septic shock syndrome / C. A. Dinarello // *J. Infect. Dis.* – 1991. – Vol. 163, N 6. – P. 1177–1184. <https://doi.org/10.1093/infdis/163.6.1177>
26. Hypothalamic nitric oxide synthase gene expression is regulation by thyroid hormones / Y. Ueta [et al.] // *Endocrinology*. – 1995. – Vol. 136, N 10. – P. 4182–4187. <https://doi.org/10.1210/en.136.10.4182>
27. A nitric oxide synthase activity in hyperthyroid and hypothyroid rats / A. Quesada [et al.] // *Eur. J. Endocrinol.* – 2002. – Vol. 147. – P. 117–122. <https://doi.org/10.1530/eje.0.1470117>
28. Influence of hyperthyroidism on the activity of liver nitric oxide synthase in the rat / V. Fernandez [et al.] // *Nitric Oxide*. – 1997. – Vol. 1, N 6. – P. 463–468. <https://doi.org/10.1006/niox.1997.0149>
29. О нормах кормления лабораторных животных и продуцентов : приказ М-ва здравоохранения СССР от 10 марта 1966 г., № 163 // *Полн. собр. законодательства СССР [Электронный ресурс]*. – Режим доступа : [www.ussrdoc.com](http://www.ussrdoc.com). – Дата доступа : 01.05.2019.
30. Glowinsky, J. Regional studies of catecholamines in the rat brain. II. Rate of turnover catecholamines in various brain regions // J. Glowinsky, L. L. Iversen // *J. Neurochem.* – 1966. – Vol. 13, N 8. – P. 661–669. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.1966.tb09874.x>
31. Laverty, R. The fluorometric assay of catecholamines and related compounds / R. Laverty, K. Taylor // *Anal. Biochem.* – 1968. – Vol. 22, N 2. – P. 269–279. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(68\)90316-3](https://doi.org/10.1016/0003-2697(68)90316-3)
32. Дорошенко, Е. М. Методологические аспекты и трудности анализа свободных (физиологических) аминокислот и родственных соединений в биологических жидкостях и тканях / Е. М. Дорошенко // *Аналитика РБ-2010 : сб. тез. докл. Респ. науч. конф. по аналит. химии с междунар. участием, Минск, 14–15 мая 2010 г. / Белорус. гос. ун-т [и др.]*. – Минск, 2010. – С. 126.
33. Sawyer, C. H. The rabbit diencephalon in stereotaxic coordinates / C. H. Sawyer, J. W. Everett, J. D. Green // *J. Comp. Neurol.* – 1954. – Vol. 101, N 3. – P. 801–824. <https://doi.org/10.1002/cne.901010307>
34. Висмонт, Ф. И. К механизму формирования нейромедиаторной дизрегуляции в центральных структурах регуляции температуры тела при бактериальной эндотоксемии / Ф. И. Висмонт, А. Ф. Висмонт // *Мед. журн.* – 2011. – № 2. – С. 27–30.
35. Висмонт, Ф. И. Эндотоксемия и дизрегуляционная патология / Ф. И. Висмонт, А. Ф. Висмонт // *Новости мед.-биол. наук*. – 2008. – № 1–2. – С. 41–46.

## References

1. Veselkin P. N. *Fever*. Moscow, Medgiz Publ., 1963. 375 p. (in Russian).
2. Gurin V. N. *Mechanisms of fever*. Minsk, Nauka i tekhnika Publ., 1993. 165 p. (in Russian).
3. Feldberg, W. Body temperature and fever: changes in our views during last decade. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B. Biological Sciences*, 1975, vol. 191, no. 1103, pp. 199–229. <https://doi.org/10.1098/rspb.1975.0124>
4. Blomqvist A., Engblom D. Neural mechanisms of inflammation-induced fever. *Neuroscientist*, 2018, vol. 24, no. 4, pp. 381–399. <https://doi.org/10.1177/1073858418760481>

5. Anochi P. I. Mechanisms of fever in humans. *International Journal of Microbiology and Immunology Research*, 2013, vol. 2, no. 5, pp. 037–043.
6. Dinarello C. A. Infection, fever, and exogenous and endogenous pyrogens: some concepts have changens. *Journal of Endotoxin Research*, 2004, vol. 10, no. 4, pp. 201–222. <https://doi.org/10.1177/09680519040100040301>
7. Walter E. J., Hanna-Jumma S., Carraretto M., Forni L. The pathophysiological basis and consequences of fever. *Critical Care*, 2016, vol. 20, no. 1, art. 200. <https://doi.org/10.1186/s13054-016-1375-5>
8. Prajitha N., Athira S. S., Mohanan P. V. Pyrogens, a polypeptide produces fever by metabolic changes in hypothalamus: mechanisms and detections. *Immunology Letters*, 2018, vol. 204, pp. 38–46. <https://doi.org/10.1016/j.imlet.2018.10.006>
9. Delyagin, V. Pathogenesis of fever and pathogenetically substantiated choice of antipyretic drugs. *Vrach [Doctor]*, 2016, no. 12, pp. 67–71 (in Russian).
10. Tansey E. A., Johnson C. D. Recent advances in thermoregulation. *Advances in Physiology Education*, 2015, vol. 39, no. 3, pp. 139–148. <https://doi.org/10.1152/advan.00126.2014>
11. Gurin V. N. *Thermoregulation and sympathetic nervous system*. Minsk, Nauka i tekhnika Publ., 1989. 231 p. (in Russian).
12. Vismont F. I., Tret'yakovich E. A. On the role of central adrenoreactive systems in the mechanisms of antipyretic action of acupuncture in endotoxin fever in rabbits. *Meditinskii zhurnal [Medical journal]*, 2007, no. 4, pp. 45–47 (in Russian).
13. Vismont F. I. The role of central adrenoreactive systems in the regulation of lipid metabolism in animals under conditions of overheating and prostaglandin fever. *Zdravookhranenie Belarusi [Health care in Belarus]*, 1981, no. 9, pp. 61–62 (in Russian).
14. Clark W. G., Lipton J. M. Brain and pituitary peptides in thermoregulation. *Pharmacology and Therapeutics*, 1983, vol. 22, no. 2, pp. 249–297. [https://doi.org/10.1016/0163-7258\(83\)90006-2](https://doi.org/10.1016/0163-7258(83)90006-2)
15. Milton A. S. Prostaglandin E<sub>1</sub> and endotoxin fever and the effects of aspirin, indomethacin and 4-acetamidophenol. *Advances in the Biosciences*, 1972, vol. 9, pp. 495–500.
16. Milton A. S., Wendlandt S. Effects on body temperature of prostaglandins of the A, E and F series on injection into the third ventricle of unanaesthetized cats and rabbits. *Journal of Physiology*, 1971, vol. 218, no. 2, pp. 325–336. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.1971.sp009620>
17. Cranston W. Central mechanisms of fever. *Federation Proceedings*, 1979, vol. 36, no. 1, pp. 49–51.
18. Gurin V. N. *Thermoregulation and biologically active blood substances*. Minsk, Biznesofset Publ., 2004. 216 p. (in Russian).
19. Getz G. S., Reardon C. A. Arginine/arginase NO NO NO. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 2006, vol. 26, no. 2, pp. 237–239. <https://doi.org/10.1161/01.ATV.0000202014.54609.9d>
20. Wu G., Morris S. M. Jr. Arginine metabolism: nitric oxide and beyond. *Biochemical Journal*, 1998, vol. 336, no. 1, pp. 1–17. <https://doi.org/10.1042/bj3360001>
21. Dmitrenko N. P., Kishko T. O., Shandrenko S. G. Arginine: biological effect, effect on the synthesis of nitric oxide. *Ukrains'kii khimioterapevtichnii zhurnal [Ukrainian chemotherapeutic journal]*, 2008, no. 1/2, pp. 137–141 (in Russian).
22. Scibior D., Czczot H. Arginine – metabolism and functions in the human organism. *Postępy higieny i medycyny doświadczalnej = Advances in hygiene and experimental medicine*, 2004, vol. 58, pp. 321–332.
23. Gerstberger R. Nitric oxide and body temperature control. *News in Physiological Sciences*, 1999, vol. 14, no. 1, pp. 30–36. <https://doi.org/10.1152/physiologyonline.1999.14.1.30>
24. Gurin V. N. *The functional role of nitric oxide in the central nervous system*. *Uspekhi fiziologicheskikh nauk = Advances in physiological sciences*, 1997, vol. 28, no. 1, pp. 53–58 (in Russian).
25. Dinarello C. A. The proinflammatory cytokines interleukin-1 and tumor necrosis factor and treatment of the septic shock syndrome. *Journal of Infectious Diseases*, 1991, vol. 163, no. 6, pp. 1177–1184. <https://doi.org/10.1093/infdis/163.6.1177>
26. Ueta Y., Levy A., Chowdrey H. S., Lightman S. L. Hypothalamic nitric oxide synthase gene expression is regulation by thyroid hormones. *Endocrinology*, 1995, vol. 136, no. 10, pp. 4182–4187. <https://doi.org/10.1210/en.136.10.4182>
27. Quesada A., Sainz J., Wangenstein R., Rodriguez-Gomez I., Vargas F., Osuna A. A nitric oxide synthase activity in hyperthyroid and hypothyroid rats. *European Journal of Endocrinology*, 2002, vol. 147, pp. 117–122. <https://doi.org/10.1530/eje.0.1470117>
28. Fernández V., Cornejo P., Tapia G., Videla L. A. Influence of hyperthyroidism on the activity of liver nitric oxide synthase in the rat. *Nitric Oxide*, 1997, vol. 1, no. 6, pp. 463–468. <https://doi.org/10.1006/niox.1997.0149>
29. On the norms of feeding of laboratory animals and producers: order of the USSR Ministry of Health of March 10, 1966, no. 163. *Complete collection of legislation of the USSR*. Available at: <http://www.ussrdoc.com>. (accessed 01.05.2019) (in Russian).
30. Glowinsky J., Iversen L. L. Regional studies of catecholamines in the rat brain. II. Rate of turnover catecholamines in various brain regions. *Journal Neurochemistry*, 1966, vol. 13, no. 8, pp. 661–669. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.1966.tb09874.x>
31. Laverty R., Taylor K. The fluorometric assay of catecholamines and related compounds. *Analytical Biochemistry*, 1968, vol. 22, no. 2, pp. 269–279. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(68\)90316-3](https://doi.org/10.1016/0003-2697(68)90316-3)
32. Doroshenko E. M. Methodological aspects and difficulties in the analysis of free (physiological) amino acids and related compounds in biological fluids and tissues. *Analitika RB-2010: sbornik tezisov dokladov Respublikanskoj nauchnoi konferentsii po analiticheskoj khimii s mezhdunarodnym uchastiem (Minsk, 14–15 maya 2010 goda) [RB Analytics-2010: a collection of abstracts of reports of the Republican scientific conference on analytical chemistry with international participation (Minsk, May 14–15, 2010)]*. Minsk, 2010, p. 126 (in Russian).

33. Sawyer C. H., Everett J. W., Green J. D. The rabbit diencephalon in stereotaxic coordinates. *Journal Comparative Neurology*, 1954, vol. 101, no. 3, pp. 801–824. <https://doi.org/10.1002/cne.901010307>

34. Vismont F. I., Vismont A. F. To the mechanism of formation of neurotransmitter dysregulation in the central structures of body temperature regulation in bacterial endotoxemia. *Meditsinskii zhurnal* [Medical journal], 2011, no. 2, pp. 27–30 (in Russian).

35. Vismont F. I., Vismont A. F. Endotoxemia and dysregulation pathology. *Novosti mediko-biologicheskikh nauk* [News of biomedical sciences], 2008, no. 1–2, pp. 41–46 (in Russian).

### **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)

*Висмонт Арвид Франтишкович* – канд. мед. наук, ст. науч. сотрудник. 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, Dzerzhinski Ave., 220116, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: [patfiz@bsmu.by](mailto:patfiz@bsmu.by)

*Arvid F. Vismont* – Ph. D. (Med.), Senior researcher. Belarusian State Medical University (83, Dzerzhinski Ave., 220116, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: [patfiz@bsmu.by](mailto:patfiz@bsmu.by)

ISSN 1814-6023 (Print)

ISSN 2524-2350 (Online)

УДК 611.018.11:616.132.2-004.6

<https://doi.org/10.29235/1814-6023-2020-17-1-38-48>

Поступила в редакцию 19.06.2019

Received 19.06.2019

**С. Л. Кабак<sup>1</sup>, Ю. М. Мельниченко<sup>1</sup>, Д. М. Гордионок<sup>1</sup>, Т. И. Каленчиц<sup>1</sup>,  
И. К. Гайдель<sup>2</sup>, О. А. Юдина<sup>3</sup>**

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

<sup>2</sup>*Республиканский научно-практический центр «Кардиология», Минск, Республика Беларусь*

<sup>3</sup>*«Республиканский клинический медицинский центр» Управления делами Президента Республики Беларусь, Ждановичи, Республика Беларусь*

## **МИОКАРДИАЛЬНЫЕ МОСТИКИ И ОБСТРУКТИВНЫЙ АТЕРОСКЛЕРОЗ ВЕНЕЧНЫХ АРТЕРИЙ**

**Аннотация.** Миокардиальный мостик (ММ) – врожденная аномалия развития, при которой сегмент венечной артерии окружен миокардом.

Цель исследования – установить место локализации ММ и выраженность атеросклеротического поражения венечных артерий у пациентов с симптомами ишемической болезни сердца и у лиц – потенциальных доноров сердца для трансплантации.

Изучены данные мультиспиральной компьютерной томографии (КТ) венечных артерий с контрастированием у пациентов, находившихся на лечении в РНПЦ «Кардиология» в 2016–2018 гг. Исследовано 324 сердца трупных доноров, не использованные для ортотопической трансплантации.

По данным аутопсии и КТ-коронарографии, ММ локализуются главным образом в бассейне передней межжелудочковой ветви левой коронарной артерии (ЛКА). В 7,4 % случаев ММ имели другую локализацию. Они были обнаружены в области дистального отдела промежуточной ветви ЛКА, в задней боковой ветви, правой коронарной артерии, первой диагональной артерии, а также по ходу ветви тупого края и огибающей ветви ЛКА. В 36 % случаев, учитывая протяженность туннелированного сегмента артерии и глубину его залегания, выявленные мостики можно рассматривать как гемодинамически значимые. При микроскопическом исследовании в туннелированном фрагменте венечных артерий в 4,9 % случаев обнаружены начальные признаки поражения сосудистой стенки в виде фибрино-мышечной дисплазии и липидоза.

По результатам КТ-коронарографии не установлено причинно-следственной связи между присутствием ММ и атеросклерозом в сегментах венечных артерий, расположенных субэпикардially.

**Ключевые слова:** КТ-ангиография, туннельная артерия, миокардиальный мостик, венечная артерия, атеросклероз

**Для цитирования:** Миокардиальные мостики и обструктивный атеросклероз венечных артерий / С. Л. Кабак [и др.] // Вес. Нац. акад. наук Беларусі. Сер. мед. навук. – 2020. – Т. 17, № 1. – С. 38–48. <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2020-17-1-38-48>

**Sergey L. Kabak<sup>1</sup>, Yuliya M. Melnichenko<sup>1</sup>, Dmitry M. Gordionok<sup>1</sup>, Tamara I. Kalenichic<sup>1</sup>,  
Irina K. Haidzel<sup>2</sup>, Olga A. Yudina<sup>3</sup>**

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

<sup>2</sup>*Republican Scientific and Practical Center “Cardiology”, Minsk, Republic of Belarus*

<sup>3</sup>*“Republican Clinical Medical Center” of the Office of the President of the Republic of Belarus, Zhdanovichy, Minsk Region, Republic of Belarus*

## **MYOCARDIAL BRIDGES AND OBSTRUCTIVE CORONARY ATHEROSCLEROSIS**

**Abstract.** The myocardial bridge (MB) is a congenital anomaly, in which a segment of a coronary artery courses through the myocardium.

The aim of the study was to establish the location of myocardial bridges and the severity of atherosclerotic lesions of the coronary arteries in patients with coronary heart disease symptoms and in individuals who are the potential heart donors for transplantation.

The data of the multislice computed tomography coronary angiography of the patients of the Republican Scientific and Practical Centre “Cardiology” from 2016 to 2018 were included in this study. 324 hearts of the deceased donors, which had not been used for orthotopic transplantation, were studied.

According to the autopsy and the CT coronary angiography, the myocardial bridges were localized mainly in the left anterior descending artery of the left coronary artery (LCA). In 7.4 % of cases, MBs were found in a distal portion of the intermediate branch of LCA, in the left postero-lateral branch, in the right coronary artery, in the first diagonal artery, as well

as along the obtuse marginal artery and the left circumflex coronary artery. In 36 % of cases, the identified bridges were considered as hemodynamically significant with regard to the length of the tunneled artery segment and its depth. Microscopic examination of the tunneled fragments of the coronary arteries in 4.9 % of cases showed the initial signs of damage of the vessel wall in the form of fibromuscular dysplasia and lipidosis.

According to the CT coronary angiography results, no causal relationship has been established between the presence of MBs and atherosclerosis in the subepicardial segments of the coronary arteries.

**Keywords:** CT angiography, tunneled artery, myocardial bridge, coronary artery, atherosclerosis

**For citation:** Kabak S. L., Melnichenko Y. M., Gordionok D. M., Kalenchic T. I., Haidzel I. K., Yudina O. A. Myocardial bridges and obstructive coronary atherosclerosis. *Vesti Natsyunal'nai akademii navuk Belarusi. Seriya meditsinskikh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2020, vol. 17, no. 1, pp. 38–48 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2020-17-1-38-48>

**Введение.** Миокардиальный мостик (ММ) – врожденная аномалия развития, при которой сегмент венечной артерии, чаще всего средний сегмент передней межжелудочковой ветви (ПМЖВ), окружен миокардом [1]. Артерия, расположенная в толще стенки сердца, называется туннелированной (ныряющей) [2].

По данным S. Hostiuc с соавт. [3], выполнивших метаанализ англоязычной литературы, общая распространенность ММ составляет 19 % (доверительный интервал, CI = 17–21 %), а частота выявления туннелированной артерии зависит от метода исследования, особенностей обследованного контингента, а также от объема выборки. При коронароангиографии ММ выявляются почти исключительно в среднем сегменте ПМЖВ левой коронарной артерии (ЛКА\*) [4] с частотой 0,5–16 % [5, 6]. При коронарной компьютерной томографической ангиографии туннелированный сегмент артерии обнаруживается у 20–30 % обследованных пациентов, хотя частота встречаемости этой врожденной аномалии развития, по данным отдельных авторов, колеблется в диапазоне от 5,7 до 58 % [7]. Такой же широкий диапазон колебаний (4,7–86 %) имеет распространенность ММ по данным аутопсии [8, 9].

В ряде патоморфологических исследований установлено, что в стенке сегмента артерии, расположенного перед ММ, часто локализуются атеросклеротические поражения сосудистой стенки, тогда как в туннелированном сегменте подобные изменения, как правило, отсутствуют [10, 11]. T. Nakaura с соавт. [1] рассматривают наличие мостика в среднем сегменте ПМЖВ как независимый фактор риска коронарного атеросклероза. Вместе с тем L. Jiang с соавт. [12] считают, что ММ является защитным механизмом от тяжелого обструктивного атеросклероза во всех венечных артериях.

Цель исследования – установить место локализации миокардиальных мостиков и выраженность атеросклеротического поражения венечных артерий у пациентов с симптомами ишемической болезни сердца и у лиц – потенциальных доноров сердца для трансплантации.

**Объекты и методы исследования.** Всего обследован 61 пациент, находившийся на лечении в РНПЦ «Кардиология» в 2016–2018 гг. (54 мужчины и 7 женщин в возрасте от 28 до 80 лет). Пациенты были госпитализированы с клиническими проявлениями заболеваний сердечно-сосудистой системы.

Мультиспиральная компьютерная томография венечных артерий с контрастированием (КТ-коронарография) выполнялась на двухэнергетическом 384-срезовом компьютерном томографе Siemens SOMATOM Force (Германия). Для оценки степени выраженности атеросклеротического поражения сосудов сердца использовали классификацию CAD-RADSTM (Coronary Artery Disease – Reporting and Data System) [13, 14]. Изучение топографии туннелированных сегментов произведено у 50 пациентов на реформатных срезах в искривленных плоскостях и трех стандартных (аксиальной, сагитальной и фронтальной). Оценивали следующие параметры: локализацию туннельной артерии, протяженность сосуда, лежащего внутри миокарда, и глубину залегания этого сегмента. Длину измеряли как протяженность от входа венечной артерии в толщу миокарда до места ее появления в субэпикардальном слое. Глубина залегания – наибольшее расстояние между поверхностью миокарда и стенкой туннелированного сегмента венечной артерии. Все измерения производили с помощью электронной линейки.

\* Согласно международной анатомической терминологии (Л. Л. Колесников, 2003), сосуд называется «левая венечная артерия».

Исследовано 324 сердца трупных доноров, не использованные для ортотопической трансплантации, в том числе 184 (56,8 %) сердца мужчин и 140 (43,2 %) – женщин. Средний возраст обследуемых составил  $47,7 \pm 11,4$  года (у мужчин –  $40,2 \pm 7,1$ , у женщин –  $55,1 \pm 10,3$ ).

Для статистического анализа полученных данных использовали программу STATISTICA 10.0.

**Результаты и их обсуждение.** Из группы наблюдения, включавшей 61 пациента, ишемическая болезнь сердца (ИБС) была выявлена у 56 (91,8 %) человек, том числе стенокардия напряжения I ФК – у 8 человек, II ФК – у 24 и III ФК – у 9 пациентов; атеросклеротический кардиосклероз – у 10, а постинфарктный кардиосклероз – у 4 человек. У 1 пациента диагностирован острый коронарный синдром. С другими заболеваниями сердечно-сосудистой системы, включая малые аномалии сердца и врожденные пороки развития, гипертрофическую кардиомиопатию, расслаивающую аневризму аорты, на стационарное лечение поступили 6 человек.

Больше половины обследованных имели факторы риска развития атеросклероза. Артериальная гипертензия (АГ) выявлена у 46 человек (в том числе АГ I степени, риск 3 – у 14, АГ II степени, риск 4 – у 28 и АГ III степени, риск 4 – у 4 пациента), а сопутствующий сахарный диабет второго типа – у 10 пациентов.

При анализе индекса коронарного кальция установлено, что у большинства (80,7 %) обследованных имелся низкий и средний риск ИБС.

Чаще всего (в 92,6 % случаев) ММ локализовались в области ПМЖВ левой венечной артерии, из них 5 (4,5 %) – в первом сегменте этой ветви, 77 (68,7 %) – во втором и 30 (26,8 %) – в третьем. У 2 пациентов одновременно второй и третий сегменты ПМЖВ лежали внутри миокарда (рис. 1). В 6 (7,4 %) случаях ММ имели другую локализацию. По одному мостику было обнаружено в области дистального отдела промежуточной ветви ЛКА, задней боковой ветви, правой коронарной артерии (рис. 2), первой диагональной артерии. В двух случаях ММ находились по ходу ветви тупого края и огибающей ветви ЛКА.

Систолическое сужение ветвей венечных артерии в области ММ регистрировали в диапазоне от 20 до 95 % их просвета (в 8 случаях – сужение до 50 %, в 4 – до 70, в 7 – 70–95 %).

Морфометрические параметры туннелированной сегмента ПМЖВ левой венечной артерии обобщены в таблице.

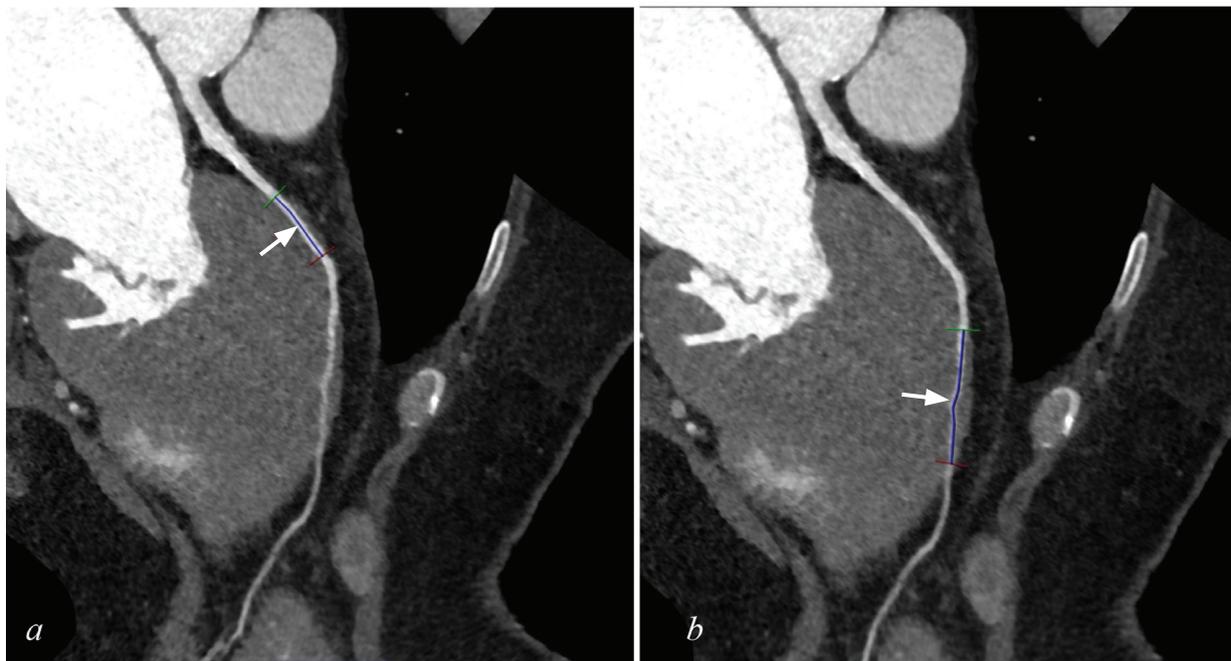


Рис. 1. Два туннелированных фрагмента (указаны стрелками) в первом (а) и втором (б) сегментах ПМЖВ (КТ-ангиография венечных артерий)

Fig. 1. Two tunneled fragments (indicated by the arrows) in the proximal (a) and mid segment (b) of the left anterior descending artery (CT angiography of the coronary arteries)

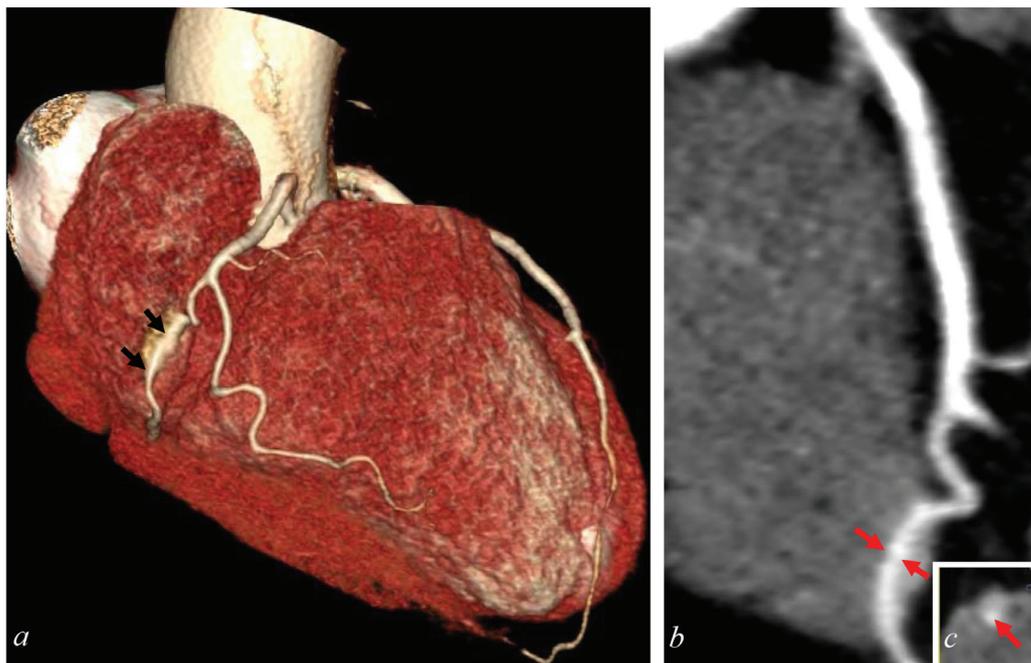


Рис. 2. Интрамуральный ход второго сегмента правой коронарной артерии в правом предсердии (туннелированный фрагмент указан стрелками): *a* – VRT-реконструкция; *b, c* – криволинейная реконструкция

Fig. 2. Intra-atrial course of the mid segment of the right coronary artery (the tunneled fragment is indicated by the arrows): *a* – VRT reconstruction image; *b, c* – curved planar reformation reconstruction images

**Морфометрические параметры туннелированного фрагмента ПМЖВ, Ме (25 %–75 %), lim**

**Morphometric parameters of the tunneled fragment of the left anterior descending artery, Me (25 %–75 %), lim**

Длина, мм ( <i>n</i> = 50)	Глубина залегания, мм ( <i>n</i> = 50)	Мышечный индекс миокардиального мостика (ММИ) ( <i>n</i> = 50)
11,15 (8,9–15,8), 3,0–44,9	1,85 (1,0–2,7), 0,4–7,4	24,3 (10,1–42,4), 2,4–332,3

Примечание. *n* – количество мостиков; ММИ (Myocardial Bridge Muscle Index) = длина × глубина залегания; Ме – медиана; lim: max–min.

В 15 (30 %) случаях артерия локализовалась на расстоянии более 2 мм от поверхности миокарда («глубокий» ММ), еще в 17 (34 %) – фрагменты ПМЖВ залегали в мышечном слое стенки сердца на глубине  $\geq 1$  и  $\leq 2$  мм («поверхностный» ММ). В 18 (36 %) случаях ММ классифицировалась как «незамкнутые» (толщина миокарда над туннельной артерией не превышала 1,0 мм).

Протяженность 5 ММ составляла более 19 мм, а артерия находилась на глубине более 2,5 мм относительно эпикарда. Такие ММ считаются «гемодинамически значимыми».

Установлена прямая корреляционная взаимосвязь средней силы между морфометрическими параметрами ММ (рис. 3). С увеличением глубины залегания фрагмента венечной артерии увеличивается протяженность этого участка (связь прямая, средняя, достоверная нелинейная).

У 1 пациента с ММ во втором сегменте ПМЖВ венечной артерии протяженностью 20 мм обнаружено аномальное расположение устья правой венечной артерии под левой створкой аортального клапана (рис. 4). В проанализированной выборке в 5 случаях наличие ММ сочеталось с другими врожденными аномалиями сердца: дефектом межжелудочковой перегородки, дефектом межпредсердной перегородки (2 пациента), открытым артериальным протоком и аномально расположенной хордой левого желудочка (2 пациента).

У большинства (97,1 %) обследованных установлена 0, 1 или 2-я степень стеноза венечных артерий по CAD RADS, что свидетельствует об отсутствии атеросклеротических бляшек либо о наличии минимального или умеренного стеноза просвета венечных артерий.

В стволе огибающей и передней межжелудочной ветви ЛКА у 61 пациента было выявлено 47 участков сужения просвета сосуда, в том числе 7 – с тяжелым стенозом, 4 – со стенозом средней тяжести, 27 и 9 – с умеренным и минимальным стенозом соответственно. В ряде случаев в одной ветви выявлялось несколько участков сужения ее просвета.

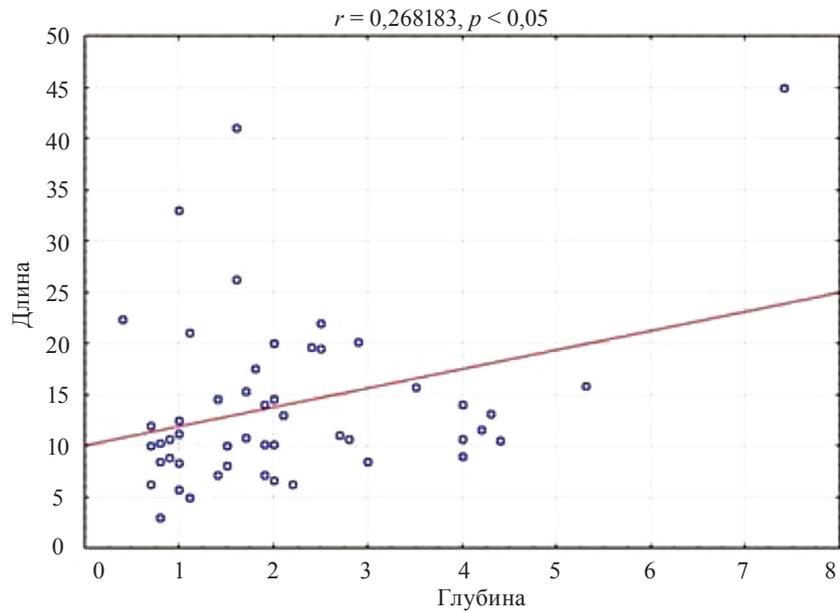


Рис. 3. Корреляция длины туннельного фрагмента ПМЖВ левой венечной артерии с глубиной ее залегания  
 Fig. 3. Correlation between the length and depth of the tunneled fragment of the left anterior descending artery

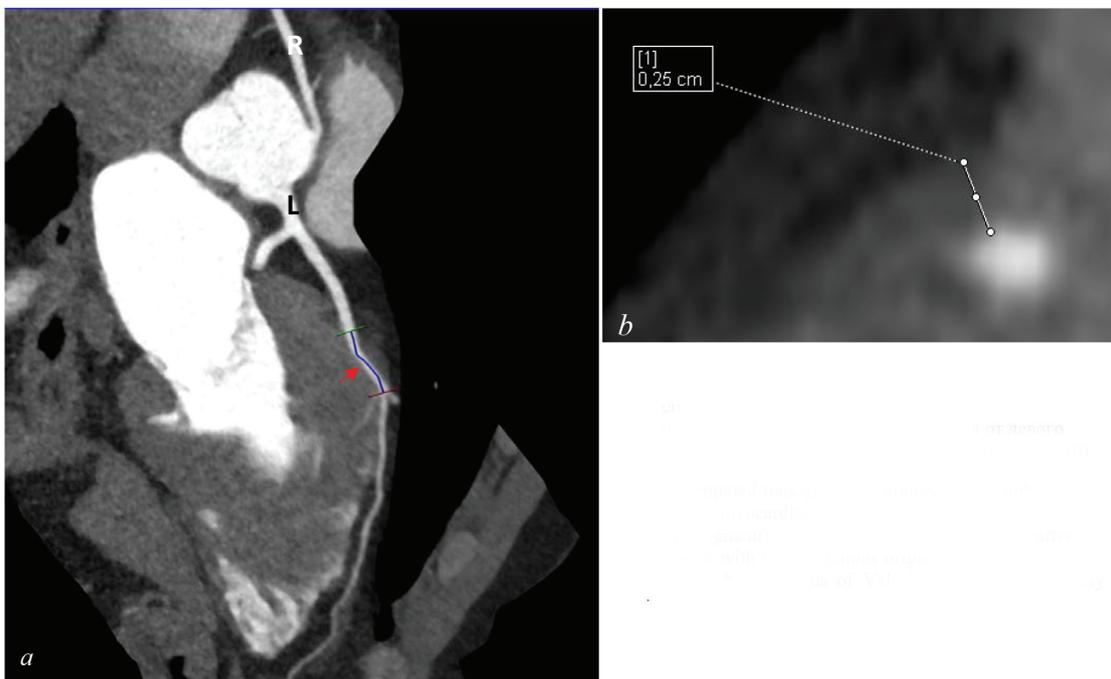


Рис. 4. Миокардиальный мостик (*a* – протяженность, *b* – глубина залегания сосуда) в ПМЖП в сочетании с аномалией места начала двух венечных артерий: обе артерии (R – правая, L – левая) начинаются от левого синуса Вальсальвы (КТ-ангиография венечных артерий)

Fig. 4. Computed tomographic coronary angiography images showing the myocardial bridge (*a* – length, *b* – depth of the tunneled fragment) of the left anterior descending artery in combination with the anomalous origin of the right coronary artery from the left sinus of Valsalva (R – right coronary artery, L – left coronary artery)

У 17 пацянтав с ММ суженне просвета артерыі абнаружывалось в 22 сегментах ПМЖВ. В 16 случаях стеноз располагался перед ММ, в 3 – после ММ (у 2 пацянтав – проксимальнее и дистальнее ММ). У 3 пацянтав ММ и участок стеноза выявлялись в одном и том же сегменте ПМЖВ.

На не использованных для ортотопической трансплантации сердцах трупных доноров аномалии венечных артерий в виде ММ выявлены в 16 случаях (12 – у мужчин, 4 – у женщин), что составило 4,9 %. ПМЖВ имела туннелированный ход (рис. 5, *a, b*) в 14 случаях (у 11 мужчин и 3 женщин), задняя межжелудочковая ветвь правой венечной артерии – в 2 сердцах (по 1 случаю у мужчины и женщины). Глубина погружения венечной артерии в миокард во всех случаях не превышала 10 мм (минимально – 3 мм, максимально – 10 мм).

При микроскопическом исследовании (рис. 5, *c, d*) в 14 случаях имела место фиброзно-мышечная дисплазия (ФМД) в сегменте венечной артерии, погруженном в миокард: в 10 артериях (во всех случаях ПМЖВ) ФМД носила циркулярный интимальный характер за счет пролиферации гладкомышечных элементов в утолщенной интиме. В 4 случаях (также ПМЖВ) ФМД можно было охарактеризовать как сегментарную интимальную форму. В 2 случаях в ПМЖВ на фоне ФМД был выявлен атеросклероз в виде пятна (до формирования бляшки) с несколькими фокусами отложения липидов.

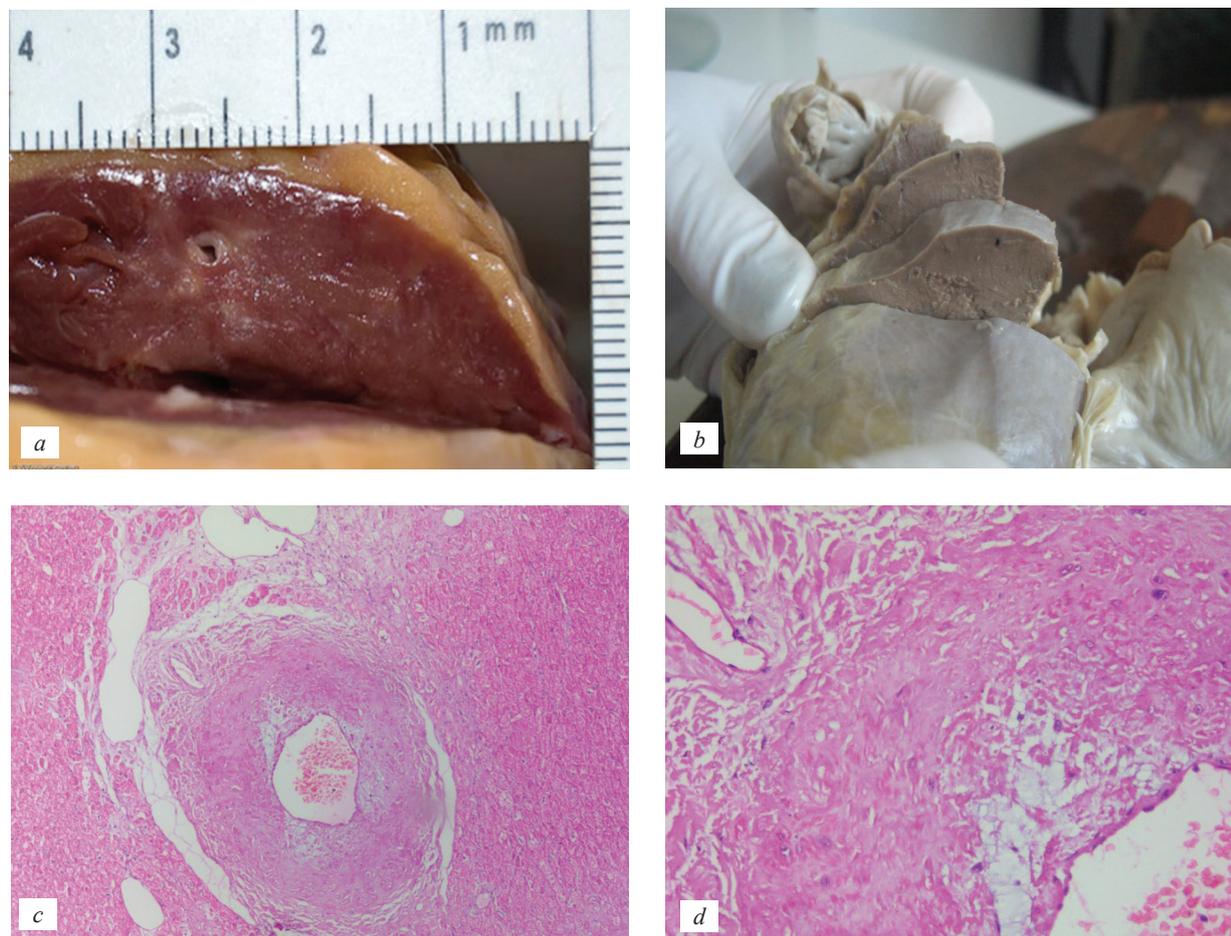


Рис. 5. Мышечные мостики венечных артерий: *a, b* – макроскопическая картина мышечного мостика ПМЖВ с глубиной погружения 8 мм; *c, d* – микроскопическая картина атеросклеротических изменений (фиброзно-мышечной дисплазии) туннелированного фрагмента артерии (*c* –  $\times 50$ , *d* –  $\times 200$ ). Окраска гематоксилином и эозином

Fig. 5. Myocardial bridges of the coronary arteries: *a, b* – macroscopic picture of the myocardial bridge of the left anterior descending artery with a depth of 8 mm; *c, d* – myocardium showing the intramural coronary artery with fibromuscular dysplasia (*c* –  $\times 50$ , *d* –  $\times 200$ ). Hematoxylin and eosin stain

По мнению S. Torii с соавт. [15], самым точным инструментальным методом прижизненно-го выявления ММ является КТ. С помощью этого метода туннелированная артерия выявлялась у 43 % обследованных пациентов [16]. Чаще всего (в 80 % случаев) мостики располагались в области ПМЖВ: в проксимальном сегменте – 3 %, в среднем – 58, в дистальном – 19 %. Расположение внутри миокарда фрагмента диагональной артерии отмечено S.-H. Liu с соавт. [16] в 12 % наблюдений, ветви тупого края и правой венечной артерии – в 7 и 2 % случаев соответственно. Результаты аутопсийных исследований свидетельствуют также о том, что, независимо от этнической принадлежности, правая венечная артерия и ее ветви значительно реже имеют туннелированные сегменты по сравнению с левой венечной артерией и ее ветвями [9]. По нашим данным, с помощью КТ-коронарографии ММ в области ПМЖВ выявлялись в 92,6 % случаев (4,5; 68,7 и 26,8 % в первом, втором и третьем сегментах соответственно). Нами также подтверждены данные литературы о том, что в других сосудах сердца ММ встречаются относительно редко. В 2 из 9 случаев «атипичной» локализации в глубине миокарда находились фрагменты правой венечной артерии. В остальных случаях это были сосуды из бассейна левой венечной артерии.

Обычно (в 70 % случаев) в сердце присутствует только один ММ [17–23]. Частота встречаемости двух ММ колеблется в диапазоне от 6,8 до 22,5 % [22, 23]. Три и более туннелированных сегмента регистрируются в 11,4 % случаев, причем, как правило, в составе одной венечной артерии [9]. В выборке, проанализированной в настоящем исследовании, в абсолютном большинстве случаев был выявлен один ММ. Только у 3 пациентов было обнаружено два туннелированных сегмента венечной артерии, которые располагались одновременно во втором и третьем сегментах ПМЖВ (2 наблюдения), а также в ветви тупого края.

Глубина залегания ММ, по данным КТ-коронарографии, колебалась в диапазоне от 0,4 до 7,4 мм, на аутопсийном материале этот показатель не превышал 10 мм. При этом следует иметь в виду, что реальные морфометрические параметры ММ всегда больше его протяженности, измеряемой на МСКТ-сканах [24]. Различия могут достигать 4,5 мм.

В 1 случае нами выявлено наличие одновременно двух врожденных аномалий развития сосудов сердца – ММ и аномального отхождения правой венечной артерии. По данным G. Teofilovski-Raparid с соавт. [9], 30,8 % сердец с ММ имеют дополнительные аномалии венечных артерий.

Проведенное нами патоморфологическое исследование показало наличие ММ в 4,9 % не использованных для ортотопической трансплантации сердец трупных доноров. P. Wymore с соавт. [25] с помощью ангиографического исследования обнаружили ММ у 33 % пациентов с уже пересаженным сердцем. В литературе имеется описание клинического случая успешной пересадки сердца с протяженным и глубоко лежащим ММ в дистальном сегменте ПМЖВ [26]. Непосредственно перед операцией миокард, покрывавший артерию, был рассечен.

До настоящего времени дискуссионным остается вопрос о том, имеется ли причинно-следственная связь между погружением фрагмента венечной артерии в миокард и поражением ее стенки атеросклеротическим процессом. В ряде публикаций отрицается какое-либо влияние ММ на появление атеросклеротических изменений в соседних сегментах венечных артерий, лежащих под эпикардом [27, 28]. Напротив, H. Duugu с соавт. [10] считают, что ММ инициирует развитие коронаросклероза или способствуют прогрессированию изменений в сосудистой стенке фрагмента, расположенного проксимально относительно мостика. Аналогичный вывод можно сделать по данным аутопсии и внутрисосудистого ультразвукового исследования [29, 30]. Однако это не означает, что в туннелированном сегменте венечной артерии атеросклеротические изменения отсутствуют, просто они могут быть менее выраженными [20]. При микроскопическом исследовании в туннелированном фрагменте ПМЖВ нами обнаружены начальные признаки поражения сосудистой стенки в виде ФМД и липидоза.

По данным J. Wigianta с соавт. [31], определявших выраженность кальциноза стенки венечных артерий у пациентов с ММ, распространенность коронаросклероза у них меньше, а количество участков со стенозом средней тяжести и тяжелым стенозом просвета сосудов ниже, чем в группе сравнения. С учетом поправки на возраст авторы делают заключение о наличии тесной связи между наличием у пациентов туннелированного фрагмента венечной артерии и низкой распространенностью атеросклеротической болезни сердца. По нашим данным, опираясь на зна-

чения индекса коронарного кальция, 80,7 % пациентов имели низкий или средний риск ИБС. При этом большую часть из них представляли лица мужского пола, которые имели дополнительные факторы риска, такие как гипертоническая болезнь и сахарный диабет.

При КТ-коронарографии сужение просвета ПМЖВ чаще всего (14 случаев) фиксировалось нами перед туннелированным фрагментом артерии и только у 3 пациентов ММ и участок стеноза выявлялись в одном и том же сегменте. Существуют различные гипотезы относительно патогенетических механизмов изменения сосудистой стенки в связи с наличием ММ. Так, формирование атеросклеротической бляшки на входе в туннелированный сегмент венечной артерии можно объяснить действием гемодинамических механизмов [32–34]. Изменение напряжения сдвига через механизм механотрансдукции модулирует экспрессию генов в эндотелиальных клетках. Низкое напряжение сдвига в проксимальном сегменте артерии индуцирует высвобождение таких эндотелиальных вазоактивных агентов, как эндотелиальная NO-синтаза, эндотелин-1 и ангиотензин-превращающий фермент, которые способствуют прогрессированию атеросклеротических изменений. В то же время высокое напряжение сдвига на протяжении туннелированного сегмента играет защитную роль. Увеличение локального напряжения и натяжения стенки венечной артерии перед ММ может индуцировать повреждение эндотелия и разрыв бляшки с последующим тромбозом и развитием острого коронарного синдрома [32].

Возможно, развитию атеросклероза в стенке туннелированного сегмента венечной артерии препятствует отсутствие прямого взаимодействия субэпикардальной жировой ткани с сосудистой стенкой, что, таким образом, защищает ее от действия провоспалительных цитокинов и адипокинов, которые продуцируются клетками жировой ткани [35]. Обнаружено также, что в области атеросклеротического поражения венечных сосудов количество субэпикардальной жировой ткани увеличено. В экспериментальных исследованиях установлено, что содержащая жировую ткань среда индуцирует адгезию моноцитов к эндотелиальным клеткам и способствует миграции макрофагов в направлении сосудистой стенки.

**Заключение.** По данным аутопсии и КТ-коронарографии, миокардиальные мостики локализируются главным образом в бассейне левой венечной артерии в ее передней межжелудочковой ветви. В 36 % случаев, учитывая протяженность туннелированного сегмента артерии и глубину его залегания, выявленные мостики можно рассматривать как гемодинамически значимую врожденную аномалию развития. Все обследованные пациенты поступали на стационарное лечение с клиническими признаками ИБС. При этом чаще всего диагностировались умеренная тяжесть стабильной стенокардии и невысокая выраженность стеноза венечных артерий по CAD RADS. Можно предположить, что наличие миокардиального мостика является дополнительным фактором, способствующим нарушению кровоснабжения миокарда. При микроскопическом исследовании в туннелированном фрагменте венечных артерий в 4,9 % случаев обнаружены начальные признаки поражения сосудистой стенки в виде фиброзно-мышечной дисплазии и липидоза. В выполненном исследовании по результатам КТ-коронарографии не удалось установить причинно-следственной связи между присутствием миокардиального мостика и атеросклерозом в сегментах венечных артерий, расположенных субэпикардально.

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

#### Список использованных источников

1. Myocardial bridging is associated with coronary atherosclerosis in the segment proximal to the site of bridging / T. Nakaura [et al.] // *J. Cardiol.* – 2014. – Vol. 63, N 2. – P. 134–139. <https://doi.org/10.1016/j.jcc.2013.07.005>
2. Нырющие артерии – норма или патология? / Г. В. Кнышов [и др.] // *Международ. мед. журн.* – 2006. – № 1. – С. 14–18.
3. Myocardial bridging: a meta-analysis of prevalence / S. Hostiuc [et al.] // *J. Forensic. Sci.* – 2018. – Vol. 63, N 4. – P. 1176–1185. <https://doi.org/10.1111/1556-4029.13665>
4. Lee, M. S. Myocardial bridging: an up-to-date review / M. S. Lee, C.-H. Chen // *J. Inv. Cardiol.* – 2015. – Vol. 27, N 11. – P. 521–528.
5. Ангиографическая диагностика туннелированной венечной артерии / С. Л. Кабак [и др.] // *Кардиология в Беларуси.* – 2015. – № 2. – С. 81–86.
6. Mok, S. Extensive unroofing of myocardial bridge: a case report and literature review / S. Mok, D. Majdalany, G. B. Pettersson // *SAGE Open Med. Case Rep.* – 2019. – Vol. 7. – P. 2050313X18823380. <https://doi.org/10.1177/2050313x18823380>

7. Myocardial bridging on coronary CTA: an innocent bystander or a culprit in myocardial infarction? / R. Nakanishi [et al.] // *J. Cardiovasc. Comput. Tomogr.* – 2012. – Vol. 6, N 1. – P. 3–13. <https://doi.org/10.1016/j.jcct.2011.10.015>
8. Myocardial bridging: what have we learned in the past and will new diagnostic modalities provide new insights? / A. V. Brusckhe [et al.] // *Neth. Heart J.* – 2013. – Vol. 21, N 1. – P. 6–13. <https://doi.org/10.1007/s12471-012-0355-x>
9. Myocardial bridges, neither rare nor isolated – autopsy study / G. Teofilovski-Parapid [et al.] // *Ann. Anat.* – 2017. – N 210. – P. 25–31. <https://doi.org/10.1016/j.aanat.2016.09.007>
10. Myocardial bridge: a bridge to atherosclerosis / H. Duygu [et al.] // *Anatol. J. Cardiol.* – 2007. – Vol. 7, N 1. – P. 12–16.
11. Histologic and immunohistochemical analysis of the antiatherogenic effects of myocardial bridging in the adult human heart / M. Loukas [et al.] // *Cardiovasc. Pathol.* – 2014. – Vol. 23, N 4. – P. 198–203. <https://doi.org/10.1016/j.carpath.2014.03.002>
12. A potential protective element of myocardial bridge against severe obstructive atherosclerosis in the whole coronary system / L. Jiang [et al.] // *BMC Cardiovasc. Disord.* – 2018. – Vol. 18, N 1. – P. 105. <https://doi.org/10.1186/s12872-018-0847-8>
13. CAD-RADS™ coronary artery disease – reporting and data system / R. C. Cury [et al.] // *JACR: J. Am. Coll. Radiol.* – 2016. – Vol. 13, N 12, Pt. A. – P. 1458–1466.e9. <https://doi.org/10.1016/j.jacr.2016.04.024>
14. Additional cardiac investigation prior to the introduction of the CAD-RADS classification in coronary computed tomography angiography reports / S. Guerreiro [et al.] // *Rev. Port Cardiol.* – 2019. – Vol. 38, N 1. – P. 45–50. <https://doi.org/10.1016/j.repc.2018.05.014>
15. Torii, S. Myocardial bridge and the progression of atherosclerotic plaque in the proximal segment / S. Torii, R. Virmani, A. Finn // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* – 2018. – Vol. 38, N 6. – P. 1250–1251. <https://doi.org/10.1161/ATVBAHA.118.311065>
16. Myocardial bridging on dual-source computed tomography: degree of systolic compression of mural coronary artery correlating with length and depth of the myocardial bridge / S.-H. Liu [et al.] // *Clin. Imaging.* – 2010. – Vol. 34, N 2. – P. 83–88. <https://doi.org/10.1016/j.clinimag.2009.05.010>
17. Myocardial bridges: morphological and functional aspects / A. G. Jr. Ferreira [et al.] // *Br. Heart J.* – 1991. – Vol. 66, N 5. – P. 364–367. <https://doi.org/10.1136/hrt.66.5.364>
18. Significance of the anatomical properties of a myocardial bridge in coronary heart disease / Y. Ishikawa [et al.] // *Circ. J.* – 2011. – Vol. 75, N 7. – P. 1559–1566. <https://doi.org/10.1253/circj.cj-10-1278>
19. Histopathologic profiles of coronary atherosclerosis by myocardial bridge underlying myocardial infarction / Y. Ishikawa [et al.] // *Atherosclerosis.* – 2013. – Vol. 226, N 1. – P. 118–123. <https://doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2012.10.037>
20. Does the myocardial bridge protect the coronary from atherosclerosis? A comparison between the branches of the dual-left anterior descending coronary artery type 3: an autopsy study / S. Nikolić [et al.] // *Atherosclerosis.* – 2013. – Vol. 227, N 1. – P. 89–94. <https://doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2012.12.010>
21. The relationship of myocardial bridges to coronary artery dominance in the adult human heart / M. Loukas [et al.] // *J. Anat.* – 2006. – Vol. 209, N 1. – P. 43–50. <https://doi.org/10.1111/j.1469-7580.2006.00590.x>
22. Saidi, H. Morphology of human myocardial bridges and association with coronary artery disease / H. Saidi, W. K. Ongeti, J. Ogeng'o // *Afr. Health Sci.* – 2010. – Vol. 10, N 3. – P. 242–247.
23. Kosiński, A. Myocardial bridges in the human heart: morphological aspects / A. Kosiński, M. Grzybiak // *Folia Morphol. (Warsz.)*. – 2001. – Vol. 60, N 1. – P. 65–68.
24. Comparison of radiological and morphologic assessments of myocardial bridges / B. Ercakmak [et al.] // *Anat. Sci. Int.* – 2015. – Vol. 90, N 4. – P. 222–228. <https://doi.org/10.1007/s12565-014-0251-0>
25. The incidence of myocardial bridges in heart transplants / P. Wymore [et al.] // *Cardiovasc. Intervent. Radiol.* – 1989. – Vol. 12, N 4. – P. 202–206. <https://doi.org/10.1007/bf02577154>
26. Successful transplantation of an older donor heart with documented myocardial bridging: a case report / A. K. Singhal [et al.] // *J. Heart Lung Transplant.* – 2005. – Vol. 24, N 3. – P. 340–342. <https://doi.org/10.1016/j.healun.2003.11.402>
27. Lubarsky, L. Evaluation of myocardial bridging of the left anterior descending coronary artery by 64-slice multidetector computed tomographic angiography / L. Lubarsky, M. P. Gupta, H. S. Hecht // *Am. J. Cardiol.* – 2007. – Vol. 100, N 7. – P. 1081–1082. <https://doi.org/10.1016/j.amjcard.2007.05.029>
28. Evaluation of myocardial bridges with 64-slice computed tomography coronary angiography / F. Bayrak [et al.] // *Acta Cardiol.* – 2009. – Vol. 64, N 3. – P. 341–346. <https://doi.org/10.2143/ac.64.3.2038019>
29. Myocardial bridging / J. R. Alegria [et al.] // *Eur. Heart J.* – 2005. – Vol. 26, N 12. – P. 1159–1168. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehi203>
30. Teragawa, H. The myocardial bridge: potential influences on the coronary artery vasculature / H. Teragawa, C. Oshita, T. Ueda // *Clin. Med. Insights Cardiol.* – 2019. – Vol. 13. – P. 1179546819846493. <https://doi.org/10.1177/1179546819846493>
31. Prevalence and predictors of bridging of coronary arteries in a large Indonesian population, as detected by 64-slice computed tomography scan / J. Wirianta [et al.] // *Neth. Heart J.* – 2012. – Vol. 20, N 10. – P. 396–401. <https://doi.org/10.1007/s12471-012-0296-4>
32. Багманова, З. А. Миокардиальные мостики коронарных артерий / З. А. Багманова // *Кардиоваскуляр. терапия и профилактика.* – 2007. – Т. 6, № 6. – С. 125–130.
33. Update on myocardial bridging / S. Möhlenkamp [et al.] // *Circulation.* – 2002. – Vol. 106, N 20. – P. 2616–2622. <https://doi.org/10.1161/01.cir.0000038420.14867.7a>
34. The effect of myocardial bridging of the coronary artery on vasoactive agents and atherosclerosis localization / T. Masuda [et al.] // *J. Pathol.* – 2001. – Vol. 193, N 3. – P. 408–414. [https://doi.org/10.1002/1096-9896\(2000\)9999:9999<::aid-path792>3.3.co;2-i](https://doi.org/10.1002/1096-9896(2000)9999:9999<::aid-path792>3.3.co;2-i)
35. Relationship between myocardial bridges and reduced coronary atherosclerosis in patients with angina pectoris / S. N. Verhagen [et al.] // *Int. J. Cardiol.* – 2013. – Vol. 167, N 3. – P. 883–888. <https://doi.org/10.1016/j.ijcard.2012.01.091>

## References

1. Nakaura T., Nagayoshi Y., Awai K., Utsunomiya D., Kawano H., Ogawa H., Yamashita Y. Myocardial bridging is associated with coronary atherosclerosis in the segment proximal to the site of bridging. *Journal of Cardiology*, 2014, vol. 63, no. 2, pp. 134–139. <https://doi.org/10.1016/j.jjcc.2013.07.005>
2. Knyshov G. V., Gogaeva E. K., Rudenko A. V., Dzakhoeva L. S., Lazorishinets V. V., Panichkin Yu. V., Salo S. V. Dividing arteries – norm or pathology? *Mezhdunarodnyi meditsinskii zhurnal = International medical journal*, 2006, no. 1, pp. 14–18 (in Russian).
3. Hostiuc S., Negoii I., Rusu M. C., Hostiuc M. Myocardial Bridging: a meta-analysis of prevalence. *Journal of Forensic Sciences*, 2018, vol. 63, no. 4, pp. 1176–1185. <https://doi.org/10.1111/1556-4029.13665>
4. Lee M. S., Chen C.-H. Myocardial bridging: an up-to-date review. *Journal of Invasive Cardiology*, 2015, vol. 27, no. 11, pp. 521–528.
5. Kabak S. L., Lozitskii A. N., Didenko N. S., Kut'ko I. M. Angiographic diagnosis of tunneled coronary artery. *Kardiologiya v Belarusi = Cardiology in Belarus*, 2015, no. 2, pp. 81–86 (in Russian).
6. Mok S., Majdalany D., Pettersson G. B. Extensive unroofing of myocardial bridge: a case report and literature review. *SAGE Open Medical Case Reports*, 2019, vol. 7, p. 2050313X18823380. <https://doi.org/10.1177/2050313X18823380>
7. Nakanishi R., Rajani R., Ishikawa Y., Ishii T., Berman D. S. Myocardial bridging on coronary CTA: an innocent bystander or a culprit in myocardial infarction? *Journal of Cardiovascular Computed Tomography*, 2012, vol. 6, no. 1, pp. 3–13. <https://doi.org/10.1016/j.jcct.2011.10.015>
8. Bruschke A. V., Veltman C. E., de Graaf M. A., Vliegen H. W. Myocardial bridging: what have we learned in the past and will new diagnostic modalities provide new insights? *Netherlands Heart Journal*, 2013, vol. 21, no. 1, pp. 6–13. <https://doi.org/10.1007/s12471-012-0355-x>
9. Teofilovski-Parapid G., Jankovic R., Kanjuh V., Virmani R., Danchin N., Prates N., Simic D. V., Parapid B. Myocardial bridges, neither rare nor isolated – autopsy study. *Annals of Anatomy – Anatomischer Anzeiger*, 2017, no. 210, pp. 25–31. <https://doi.org/10.1016/j.aanat.2016.09.007>
10. Duygu H., Zoghi M., Nalbantgil S., Kirilmaz B., Türk U., Ozerkan F., Akilli A., Akin M. Myocardial bridge: a bridge to atherosclerosis. *Anatolian Journal of Cardiology*, 2007, no. 7, pp. 12–16.
11. Loukas M., Bhatnagar A., Arumugam S., Smith K., Matusz P., Gielecki J., Tubbs R. S. Histologic and immunohistochemical analysis of the antiatherogenic effects of myocardial bridging in the adult human heart. *Cardiovascular Pathology*, 2014, vol. 23, no. 4, pp. 198–203. <https://doi.org/10.1016/j.carpath.2014.03.002>
12. Jiang L., Zhang M., Zhang H., Shen L., Shao Q., Shen L., He B. A potential protective element of myocardial bridge against severe obstructive atherosclerosis in the whole coronary system. *BMC Cardiovascular Disorders*, 2018, vol. 18, no. 1, p. 105. <https://doi.org/10.1186/s12872-018-0847-8>
13. Cury R. C., Abbara S., Achenbach S., Agatston A., Berman D. S., Budoff M. J. [et al.]. CAD-RADS™ coronary artery disease – reporting and data system. *JACR: Journal of the American College of Radiology*, 2016, vol. 13, no. 12, pt. A, pp. 1458–1466.e9. <https://doi.org/10.1016/j.jacr.2016.04.024>
14. Guerreiro S., Ferreira A. M., Abecasis J., Saraiva C., Dores H., Cardoso G., Santos A. C., Castro M., Mendes M. Additional cardiac investigation prior to the introduction of the CAD-RADS classification in coronary computed tomography angiography reports. *Revista Portuguesa de Cardiologia*, 2019, vol. 38, no. 1, pp. 45–50. <https://doi.org/10.1016/j.repc.2018.05.014>
15. Torii S., Virmani R., Finn A. Myocardial bridge and the progression of atherosclerotic plaque in the proximal segment. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 2018, vol. 38, no. 6, pp. 1250–1251. <https://doi.org/10.1161/ATVBAHA.118.311065>
16. Liu S.-H., Yang Q., Chen J.-H., Wang X.-M., Wang M., Liu C. Myocardial bridging on dual-source computed tomography: degree of systolic compression of mural coronary artery correlating with length and depth of the myocardial bridge. *Clinical Imaging*, 2010, vol. 34, no. 2, pp. 83–88. <https://doi.org/10.1016/j.clinimag.2009.05.010>
17. Ferreira A. G. Jr., Trotter S. E., König B. Jr., Décourt L. V., Fox K., Olsen E. G. Myocardial bridges: morphological and functional aspects. *British Heart Journal*, 1991, vol. 66, no. 5, pp. 364–367. <https://doi.org/10.1136/hrt.66.5.364>
18. Ishikawa Y., Kawawa Y., Kohda E., Shimada K., Ishii T. Significance of the anatomical properties of a myocardial bridge in coronary heart disease. *Circulation Journal*, 2011, vol. 75, no. 7, pp. 1559–1566. <https://doi.org/10.1253/circj.cj-10-1278>
19. Ishikawa Y., Akasaka Y., Akishima-Fukasawa Y., Iuchi A., Suzuki K., Uno M. [et al.]. Histopathologic profiles of coronary atherosclerosis by myocardial bridge underlying myocardial infarction. *Atherosclerosis*, 2013, vol. 226, no. 1, pp. 118–123. <https://doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2012.10.037>
20. Nikolić S., Živković V., Manojlović E. G., Milovanović P., Djonić D., Djurić M. Does the myocardial bridge protect the coronary from atherosclerosis? A comparison between the branches of the dual-left anterior descending coronary artery type 3: an autopsy study. *Atherosclerosis*, 2013, vol. 227, no. 1, pp. 89–94. <https://doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2012.12.010>
21. Loukas M., Curry B., Bowers M., Louis R. G. Jr., Bartczak A., Kiedrowski M., Kamionek M., Fudalej M., Wagner T. The relationship of myocardial bridges to coronary artery dominance in the adult human heart. *Journal of Anatomy*, 2006, vol. 209, no. 1, pp. 43–50. <https://doi.org/10.1111/j.1469-7580.2006.00590.x>
22. Saidi H., Ongeti W. K., Ogeng'o J. Morphology of human myocardial bridges and association with coronary artery disease. *African Health Sciences*, 2010, vol. 10, no. 3, pp. 242–247.
23. Kosiński A., Grzybiak M. Myocardial bridges in the human heart: morphological aspects. *Folia Morphologica (Warszawa)*, 2001, vol. 60, no. 1, pp. 65–68.
24. Ercakmak B., Bulut E., Hayran M., Kaymaz F., Bilgin S., Hazirolan T., Bayramoglu A., Erbil M. Comparison of radiological and morphologic assessments of myocardial bridges. *Anatomical Science International*, 2015, vol. 90, no. 4, pp. 222–228. <https://doi.org/10.1007/s12565-014-0251-0>

25. Wymore P., Yedlicka J. W., Garcia-Medina V., Olivari M. T., Hunter D. W., Castañeda-Zúñiga W. R., Amplatz K. The incidence of myocardial bridges in heart transplants. *CardioVascular and Interventional Radiology*, 1989, vol. 12, no. 4, pp. 202–206. <https://doi.org/10.1007/bf02577154>
26. Singhal A.K., McClurken J. B., Fisher C. A., Macha M., Mohara J., Furukawa S. Successful transplantation of an older donor heart with documented myocardial bridging: a case report. *Journal of Heart and Lung Transplantation*, 2005, vol. 24, no. 3, pp. 340–342. <https://doi.org/10.1016/j.healun.2003.11.402>
27. Lubarsky L., Gupta M. P., Hecht H. S. Evaluation of myocardial bridging of the left anterior descending coronary artery by 64-slice multidetector computed tomographic angiography. *American Journal of Cardiology*, 2007, vol. 100, no. 7, pp. 1081–1082. <https://doi.org/10.1016/j.amjcard.2007.05.029>
28. Bayrak F., Degertekin M., Eroglu E., Guneyesu T., Sevinc D., Gemici G., Mutlu B., Aytacilar S. Evaluation of myocardial bridges with 64-slice computed tomography coronary angiography. *Acta Cardiologica*, 2009, vol. 64, no. 3, pp. 341–346. <https://doi.org/10.2143/ac.64.3.2038019>
29. Alegria J. R., Herrmann J., Holmes D. R. Jr., Lerman A., Rihal C. S. Myocardial bridging. *European Heart Journal*, 2005, vol. 26, no. 12, pp. 1159–1168. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehi203>
30. Teragawa H., Oshita C., Ueda T. The myocardial bridge: potential influences on the coronary artery vasculature. *Clinical Medicine Insights: Cardiology*, 2019, vol. 13, p. 1179546819846493. <https://doi.org/10.1177/1179546819846493>
31. Wirianta J., Mouden M., Ottervanger J. P., Timmer J. R., Juwana Y. B., de Boer M.-J., Suryapranata H. Prevalence and predictors of bridging of coronary arteries in a large Indonesian population, as detected by 64-slice computed tomography scan. *Netherlands Heart Journal*, 2012, vol. 20, no. 10, pp. 396–401. <https://doi.org/10.1007/s12471-012-0296-4>
32. Bagmanova Z. A. Myocardial bridges of coronary arteries. *Kardiovaskulyarnaya terapiya i profilaktika = Cardiovascular therapy and prevention*, 2007, vol. 6, no. 6, pp. 125–130 (in Russian).
33. Möhlenkamp S., Hort W., Ge J., Erbel R. Update on myocardial bridging. *Circulation*, 2002, vol. 106, no. 20, pp. 2616–2622. <https://doi.org/10.1161/01.cir.0000038420.14867.7a>
34. Masuda T., Ishikawa Y., Akasaka Y., Itoh K., Kiguchi H., Ishii T. The effect of myocardial bridging of the coronary artery on vasoactive agents and atherosclerosis localization. *Journal of Pathology*, 2001, vol. 193, no. 3, pp. 408–414. [https://doi.org/10.1002/1096-9896\(2000\)9999:9999<::aid-path792>3.3.co;2-i](https://doi.org/10.1002/1096-9896(2000)9999:9999<::aid-path792>3.3.co;2-i)
35. Verhagen S. N., Rutten A., Meijs M. F., Isgum I., Cramer M. J., van der Graaf Y., Visseren F. L. Relationship between myocardial bridges and reduced coronary atherosclerosis in patients with angina pectoris. *International Journal of Cardiology*, 2013, vol. 167, no. 3, pp. 883–888. <https://doi.org/10.1016/j.ijcard.2012.01.091>

### Информация об авторах

*Кабак Сергей Львович* – д-р мед. наук, профессор, заведующий кафедрой. Белорусский государственный медицинский университет (пр. Дзержинского, 83, 220116, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: kabakmorph@gmail.com

*Мельниченко Юлия Михайловна* – канд. мед. наук, доцент. Белорусский государственный медицинский университет (пр. Дзержинского, 83, 220116, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: mjm1980@yandex.ru

*Гордионик Дмитрий Михайлович* – ассистент. Белорусский государственный медицинский университет (пр. Дзержинского, 83, 220116, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: delmicom11@gmail.com

*Каленчиц Тамара Ивановна* – канд. мед. наук, доцент. Белорусский государственный медицинский университет (пр. Дзержинского, 83, 220116, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: kalenichic@gmail.com

*Гайдель Ирина Казимировна* – врач-рентгенолог. Республиканский научно-практический центр «Кардиология» (ул. Розы Люксембург, 110 Б, 220036, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: irena.heidel@gmail.com

*Юдина Ольга Анатольевна* – канд. мед. наук, доцент, врач-патологоанатом. «Республиканский клинический медицинский центр» Управления делами Президента Республики Беларусь (Ждановичский с/с, 81/5, 223028, Ждановичи, Минский р-н, Республика Беларусь). E-mail: o.yudina@inbox.ru

### Information about the authors

*Sergey L. Kabak* – D. Sc. (Med.), Professor, Head of the Department. Belarusian State Medical University (83, Dzerzhinski Ave., 220116, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: kabakmorph@gmail.com

*Yuliya M. Melnichenko* – Ph. D. (Med.), Assistant Professor. Belarusian State Medical University (83, Dzerzhinski Ave., 220116, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: mjm1980@yandex.ru

*Dmitry M. Gordionok* – Assistant. Belarusian State Medical University (83, Dzerzhinski Ave., 220116, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: delmicom11@gmail.com

*Tamara I. Kalenichic* – Ph. D. (Med.), Assistant Professor. Belarusian State Medical University (83, Dzerzhinski Ave., 220116, Minsk, Republic of Belarus).

E-mail: kalenichic@gmail.com

*Irina K. Haidzel* – Radiologist. Republican Scientific and Practical Center “Cardiology”, Minsk, Republic of Belarus (110 B, R. Luxemburg Str., 220036, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: irena.heidel@gmail.com

*Olga A. Yudina* – Ph. D. (Med.), Assistant Professor, Pathologist. “Republican Clinical Medical Center” of the Office of the President of the Republic of Belarus (81/5, Zhdanovichy s/s, 223028, Zhdanovichy, Minsk Region, Republic of Belarus). E-mail: o.yudina@inbox.ru

ISSN 1814-6023 (Print)

ISSN 2524-2350 (Online)

УДК 616.61:616.611:616.16-018-053.8

<https://doi.org/10.29235/1814-6023-2020-17-1-49-54>

Поступила в редакцию 24.06.2019

Received 24.06.2019

**К. С. Комиссаров**

*Минский научно-практический центр хирургии, трансплантации и гематологии,  
Минск, Республика Беларусь*

## **МУЛЬТИЦЕНТРОВОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ПРИЧИН ТЕРМИНАЛЬНОЙ СТАДИИ ХРОНИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ ПОЧЕК У ПАЦИЕНТОВ, ПОЛУЧАЮЩИХ ЛЕЧЕНИЕ ПРОГРАММНЫМ ГЕМОДИАЛИЗОМ В Г. МИНСКЕ**

**Аннотация.** Проведено одномоментное поперечное обследование пациентов, получавших лечение программным гемодиализом (ПГД) в диализных отделениях г. Минска на начало 2017 г. с целью определения основных причин терминальной стадии хронической болезни почек (ХБП). Согласно критериям включения и исключения, для дальнейшего анализа было отобрано 289 человек, в том числе 174 (60,2 %) мужчины. Медиана возраста составила 57 (45; 66) лет. Медиана продолжительности терапии – 26 (8; 78) мес. Основной причиной начала диализа у 35,3 % пациентов был хронический гломерулонефрит, второе место занимала диабетическая нефропатия (15,9 %), третье – поликистозная болезнь почек (13,5 %). Поражение почек в рамках ANCA-ассоциированного васкулита было выявлено у 4 (1,4 %) пациентов, что несколько ниже, чем в восточноевропейских диализных центрах, где системный васкулит является причиной начала почечно-заместительной терапии в 6,7 % случаев. Гистологическая верификация причин терминальной стадии ХБП была проведена лишь у 25 (8,7 %) пациентов, при этом наиболее частым патологическим диагнозом была IgA-нефропатия, которая определялась у 44 % пациентов по данным нефробиопсии. Результаты нашего анализа свидетельствуют о недостаточной доле гистопатологически верифицированных диагнозов у получающих лечение гемодиализом пациентов, что не позволяет в полной мере провести дифференциальную диагностику между первичными диффузными заболеваниями почек и вторичным поражением почек при артериальной гипертензии, сахарном диабете и системных васкулитах.

**Ключевые слова:** хроническая болезнь почек, диализ, причины, хронический гломерулонефрит, IgA-нефропатия, гистопатологический диагноз, эпидемиология

**Для цитирования:** Комиссаров, К. С. Мультицентровое исследование причин терминальной стадии хронической болезни почек у пациентов, получающих лечение программным гемодиализом в г. Минске / К. С. Комиссаров // Вест. Нац. акад. наук Беларусі. Сер. мед. навук. – 2020. – Т. 17, № 1. – С. 49–54. <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2020-17-1-49-54>

**Kirill S. Komissarov**

*Minsk Scientific and Practical Center of Surgery, Transplantology and Hematology, Minsk, Republic of Belarus*

## **MULTICENTER STUDY OF THE CAUSES OF THE END STAGE RENAL DISEASE IN PATIENTS ON CHRONIC HEMODIALYSIS IN MINSK**

**Abstract.** The cross-sectional study of the patients receiving hemodialysis (HD) treatment in the dialysis departments in Minsk at the beginning of the year 2017 was made. The aim of the study was to define the main cause of the end stage renal disease (ESRD) among HD patients in the dialysis departments in Minsk. According to the inclusion and exclusion criteria, 289 patients were selected for further analysis. The median of the age was 57 (45; 66) years, for men it was 174 (60.2 %) years. The median of therapy duration was 26 (8; 66) months. The main cause of the end stage renal disease was chronic glomerulonephritis in 35.3 % of patients, the second was diabetes mellitus in 15.9 % of patients, and the third was the polycystic disease in 13.5 % of patients. Kidney damage in the frame of ANCA-vasculitis was revealed in 4 (1.4 %) patients, which is less than in Eastern European Centers where systemic vasculitis is the cause of ESRD in 6.7 % of cases. Histological verification of the diagnosis was conducted in 25 (8.7 %) patients while the most frequent diagnosis was IgA-nephropathy that was defined in 44 % of biopsied persons. The results of our analysis point to an insufficient rate of histopathology that proved the diagnosis among of the HD patients in Minsk. It does not allow us to conduct a complete differential diagnosis between kidney damage due to the primary diffuse kidney disease or arterial hypertension, diabetes mellitus and systemic vacuities.

**Keywords:** chronic kidney disease, dialysis, cause, chronic glomerulonephritis, IgA nephropathy, histopathology diagnosis, epidemiology

**For citation:** Komissarov K. S. Multicenter study of the causes of the end stage renal disease in patients on chronic hemodialysis in Minsk. *Vesti Natsyonal'noi akademii nauk Belarusi. Seriya meditsinskikh nauk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2020, vol. 17, no. 1, pp. 49–54 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2020-17-1-49-54>

**Введение.** Хроническая болезнь почек (ХБП) является серьезной медицинской и социально-экономической проблемой в мире. За последнее десятилетие число пациентов, получающих лечение с использованием различных методов почечно-заместительной терапии (ПЗТ), достигло 2 млн человек [1]. В Республике Беларусь в 2010 г. годовой прирост числа пациентов, получавших заместительную почечную терапию, составил около 2,5 %, что соответствовало общемировым тенденциям [2]. В 2010 г. нашей стране общее число людей, обеспеченных заместительной почечной терапией, достигло цифры 306 человек на 1 млн населения, что вывело нашу страну на передовые позиции среди стран СНГ (в России этот показатель составлял 157, в Украине – 101, в Западной Европе – 600, в Японии – 1200) [2]. Несмотря на успехи, достигнутые в мире по обеспечению диализных мест, у этой когорты пациентов сохраняются высокие показатели смертности и частоты госпитализаций, что многие авторы объясняют увеличением среднего возраста пациентов, а также распространенностью поражения почек при сахарном диабете и артериальной гипертензии, скрытыми системными болезнями, являющимися причиной терминальной стадии ХБП [3, 4].

Целью нашего исследования являлось изучение основных причин терминальной стадии хронической болезни почек пациентов, получающих лечение программным гемодиализом в г. Минске.

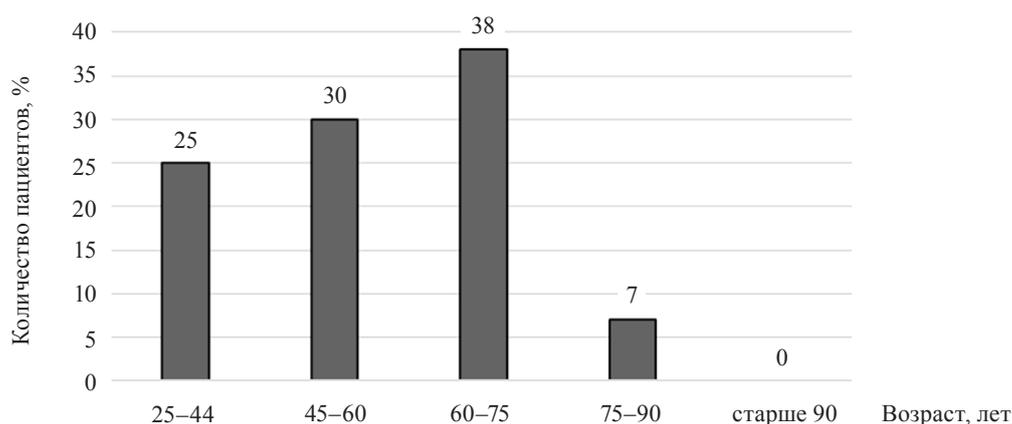
**Материалы и методы исследования.** Проведено одномоментное мультицентровое исследование причин терминальной стадии ХБП у пациентов, получавших лечение программным гемодиализом (ПГД) в начале 2017 г. в учреждениях здравоохранения города Минска: 1-й городской клинической больнице, 4-й городской клинической больнице имени Н. Е. Савченко и 9-й городской клинической больнице. Критериями включения являлись возраст пациентов старше 18 лет, а также нахождение более 3 мес. на лечении программным гемодиализом по поводу конечной стадии ХБП. Во время исследования учитывали половозрастную структуру когорты, клинический диагноз болезни, которая была причиной ХБП, наличие в анамнезе выполненной нефробиопсии с целью верификации диагноза, а также продолжительность нахождения на диализотерапии.

Для статистической обработки данных использовали программный пакет STATISTICA 10.0. На первоначальном этапе проводили анализ соответствия вида распределения количественных показателей закону нормального распределения, который выполняли с использованием критерия Шапиро–Уилка. Количественные показатели исследования представлены медианой и квантилями в виде  $Me (Q_{25}; Q_{75})$ . Качественные показатели в группе представлены в виде абсолютных ( $n$ ) и относительных (%) значений. Все показатели, полученные в данном исследовании, имели отклонения от нормального распределения, в связи с чем для анализа были использованы методы непараметрической статистики. Для сравнения количественных показателей использовали критерий Манна–Уитни в случае двух групп и Крускала–Уоллиса в случае трех и более групп.

**Результаты и их обсуждение.** В исследование было включено 289 человек, которые находились на лечении ПГД в клиниках г. Минска и удовлетворяли критериям включения. Возраст пациентов в группе составил 57 (45; 66) лет, при этом самому возрастному пациенту было 85 лет. Распределение пациентов на группы, согласно классификации Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), показало, что наиболее представительной была группа лиц пожилого возраста (38 %), затем пациенты среднего возраста (30 %), а на долю пациентов молодого возраста приходилось 25 %. Доля лиц старческого возраста составила 7 % (см. рисунок).

Полученные нами данные полностью соответствуют общемировой тенденции к увеличению числа пациентов старших возрастных групп, для которых характерна высокая распространенность поражения почек при сахарном диабете и хронической сердечной недостаточности.

Распределение пациентов по гендерному составу показало преобладание мужчин (174 (60,2 %) человека), соотношение женщин и мужчин – 1:1,5. Медиана продолжительности ПЗТ составила 26 (8; 78) мес. (максимальная продолжительность нахождения на лечении ПГД у одного пациента превысила 27 лет).



Распределение пациентов на группы согласно возрастной классификации ВОЗ

Distribution of the patients into groups according to the WHO age classification

Основные клинические диагнозы заболеваний, которые явились причиной диализной стадии ХБП, представлены в табл. 1.

Таблица 1. Основные причины и распространенность диализной стадии ХБП

Table 1. The main causes and prevalence of the dialysis stage of the chronic kidney disease

Нозология	К-во пациентов	
	абс.	отн.
Хронический гломерулонефрит	102	35,3
Диабетическая нефропатия	46	15,9
Поликистоз почек	39	13,5
Артериальная гипертензия	37	12,8
Хронический пиелонефрит	14	4,8
Хронический тубулоинтерстициальный нефрит	12	4,2
Врожденная аномалия мочевых путей	11	3,8
Мочекаменная болезнь	6	2,1
Подагра	4	1,4
ANCA-ассоциированный васкулит	4	1,4

Основной причиной терминальной стадии ХБП, по данным анамнеза и лабораторных параметров, явился хронический гломерулонефрит (ХГН), который был более чем у трети пациентов, получающих ПГД. В свою очередь, по данным европейских и североамериканских диализных регистров, основными причинами начала ПЗТ являются поражение почек при сахарном диабете и артериальная гипертензия. В когорте наших пациентов диабетическая нефропатия и артериальная гипертензия заняли второе и четвертое места соответственно, что можно объяснить более молодым средним возрастом пациентов при начале диализа у нас в стране по сравнению с экономически развитыми странами мира (57 лет против 65–74 лет соответственно) [5]. Тем не менее, как указывалось выше, наблюдалось увеличение доли пациентов пожилого возраста и в нашей диализной группе (см. рисунок). Следует отметить, что у наших ближайших соседей (в Российской Федерации, Республике Польша) ХГН тоже занимает первое место по причине выхода на терминальную стадию почечной недостаточности. Так, по данным варшавского диализного центра (Республика Польша), частота первичного гломерулонефрита составляла 22,9 %, что было ненамного выше, чем распространенность диабетической нефропатии (20 %), при этом средний возраст получающих лечение диализом пациентов составлял  $61,74 \pm 16,04$  года [6].

Другими важными причинами терминальной стадии ХБП в г. Минске были поликистозная болезнь почек (ПКП), встречающаяся в 13,5 % случаев, и тубулоинтерстициальные поражения

почек как бактериальной (4,8 %), так и иммунной природы (4,2 %), что не противоречит международным данным, согласно которым на долю ПКП приходится примерно 10 % случаев [6].

Следующими нозологическими единицами, которые находятся на стыке нефрологии и других медицинских специальностей, были мочекаменная болезнь (2,1 %) и подагра (1,4 %), которые заняли 8-е и 9-е места соответственно по причине развития ХБП терминальной стадии. Нельзя не отметить, что в настоящее время расширены показания к применению ПЗТ у пациентов с онкологическими заболеваниями, что привело к увеличению числа таких пациентов в г. Минске. На момент нашего исследования 2 (0,7 %) пациента с радикально излеченными формами рака находились на хроническом диализе и еще 2 человека с диагнозом множественной миеломы продолжали получать патогенетическую терапию основного заболевания вместе с ПГД.

Частота встречаемости онкологических заболеваний и обструктивной нефропатии была одинаковой. Они наблюдались у 0,7 % пациентов мужского пола пожилого возраста, и причиной этого была хроническая задержка мочи на фоне доброкачественной гиперплазии предстательной железы.

Редкими причинами начала ПЗТ, по нашим данным, были наследственные заболевания (синдром Альпорта у 1 (0,3 %) пациента) и амилоидоз почек (0,7 % случаев).

У 9 (3,1 %) пациентов были диагностированы заболевания, имеющие аутоиммунную этиологию и приводящие к вторичному поражению почек, при этом у 1 (0,3 %) пациента был диагностирован первичный антифосфолипидный синдром, у других – ревматоидный артрит, системная красная волчанка, пурпура Шенлейна–Геноха и болезнь Крона. В то же время поражение почек в рамках ANCA-ассоциированного васкулита было выявлено лишь у 4 (1,4 %) пациентов, что ниже, чем в восточноевропейском центре, где системный васкулит являлся причиной начала ПЗТ в 6,7 % случаев [6]. Логичным объяснением этой особенности у пациентов нашей когорты может служить тот факт, что гистологическая верификация причин терминальной стадии ХБП была проведена лишь у 25 (8,7 %) человек, что, по-видимому, недостаточно для исключения быстро прогрессирующих форм гломерулонефритов, а также для проведения дифференциального диагноза между поражением почек при артериальной гипертензии, хронической сердечной недостаточности и первичных диффузных болезнях почек.

Анализ гистопатологических диагнозов показал, что основной формой гломерулонефрита была IgA-нефропатия, которая наблюдалась у 44 % пациентов. Следующими по частоте встречаемости были поражения почек в рамках ANCA-ассоциированных васкулитов, для которых характерно развитие малоиммунного полулунного гломерулонефрита. На третьем месте был мембранопротролиферативный гломерулонефрит (табл. 2). Этиология последнего часто носит многообразный характер и может включать как инфекционную природу, так и иммунокомплексную, а также активацию системы комплемента по альтернативному пути.

Т а б л и ц а 2. Основные гистопатологические диагнозы у пациентов с терминальной стадией ХБП

Table 2. The main histopathological diagnoses in ESRD patients

Гистопатологический диагноз	К-во пациентов	
	абс.	отн.
IgA-нефропатия	11	44
Малоиммунный полулунный гломерулонефрит	4	16
Мембранопротролиферативный ХГН	3	12
Амилоидоз почек	2	8
Фокально-сегментарный гломерулосклероз	2	8
Диабетическая нефропатия	1	4
Люпус-нефрит	1	4
Первичный нефроангиосклероз	1	4

Сравнительный анализ данных показал, что среди пациентов с подтвержденным и неподтвержденным гистопатологическим диагнозом моложе были те, кому выполнялась нефробиопсия (НБ) на додиализном этапе (47,5 (35; 60) года против 59 (47;67) лет,  $p = 0,0019$ ), а наиболее

молодыми были пациенты с IgA-нефропатией (42 (33; 55) года,  $p = 0,0001$ ). Согласно эпидемиологическим данным, для лиц молодого и среднего возраста характерно превалирование первичных диффузных болезней почек, которые имеют потенциальный риск «возврата» в почечный трансплантат, что, естественно, приводит к быстрой утрате функции последнего. По данным нашего наблюдения, частота выполнения НБ в группе пациентов молодого и среднего возраста не превысила 12 %, а у пожилых она составила 5,2 %. Несмотря на то что для пациентов старше 60 лет характерно развитие вторичных поражений почек, связанных с сахарным диабетом, артериальной гипертензией и атеросклерозом, имеется ряд доказательств необходимости проведения дифференциальной диагностики с быстро прогрессирующими формами гломерулонефритов, наблюдаемыми при ANCA-ассоциированных васкулитах и парапротеинемических гемобластозах (множественная миелома), которые потенциально являются жизнеугрожающими и требуют проведения активной иммуносупрессивной терапии, несмотря на сниженную почечную функцию и даже диализную стадию ХБП. Одним из основных методов постановки диагноза таким пациентам является НБ.

**Заключение.** Таким образом, проведенное нами одномоментное обследование когорты получающих лечение гемодиализом пациентов г. Минска показало увеличение числа лиц пожилого возраста, доля которых в диализных отделениях г. Минска в инспектируемые годы составила 38 %. Основной причиной терминальной стадии ХБП являлся первичный хронический гломерулонефрит (35,3 % пациентов), второе место заняло поражение почек при сахарном диабете (15,9 %), третье место – поликистозная болезнь почек (13,5 %). На наш взгляд, такое распределения нозологических единиц как причин диализной стадии ХБП может быть объяснено возрастом получающих лечение ПГД пациентов – 57 (45; 66) лет. Согласно классификации ВОЗ, это соответствует средней возрастной группе, для которой характерно преобладание диффузных поражений почек над сосудистыми и метаболическими. Тем не менее, гистологически верифицированный диагноз терминальной стадии ХБП был установлен лишь у 8,7 % пациентов. По данным результатов НБ, наиболее частой причиной терминальной стадии ХБП была IgA-нефропатия. На наш взгляд, такое количество проведенных НБ является недостаточным с учетом увеличивающегося числа пациентов с ХБП. Гистопатологическая верификация клинического диагноза на додиализных этапах играет важную роль в стратификации рисков и проведению уже на ранних этапах ПЗТ лечебных мероприятий по профилактики развития внепочечных осложнений системного заболевания, а также развития рецидива первичного гломерулонефрита в почечный трансплантат.

**Конфликт интересов.** Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

#### Список использованных источников

1. Foley, R. N. End stage renal disease in United states: an update from United States Renal Data System / R. N. Foley, A. J. Collins // *J. Am. Soc. Nephrol.* – 2007. – Vol. 18, N 10. – P. 2644–2648. <https://doi.org/10.1681/ASN.2007020220>
2. Пилотович, В. С. Анализ заместительной почечной терапии у нефрологических больных в Республике Беларусь / В. С. Пилотович, О. В. Калачик // *Медицина.* – 2011. – Т. 73, № 2. – С. 7–12.
3. Бикбов, Б. Т. О состоянии заместительной терапии больных с хронической почечной недостаточностью в Российской Федерации в 1998–2003 гг. (Отчет по данным регистра Российского диализного общества) / Б. Т. Бикбов, Н. А. Томилина // *Нефрология и диализ.* – 2005. – Т. 7, № 3. – С. 204–275.
4. Hakim, R. M. Reducing early mortality in hemodialysis patients / R. M. Hakim // *Curr. Opin. Nephrol. Hypertens.* – 2008. – Vol. 17, N 6. – P. 595–599. <https://doi.org/10.1097/mnh.0b013e3283136746>.
5. Renal replacement therapy in Europe – a summary of the 2012 ERA-EDTA registry annual report / M. Pippias [et al.] // *Clin. Kidney J.* – 2015. – Vol. 8, N 3. – P. 248–261. <https://doi.org/10.1093/ckj/sfv014>
6. First year survival of patients on maintain dialysis treatment in Poland / D. Brodowska-Kania [et al.] // *Nagoya J. Med. Sci.* – 2015. – Vol. 77, N 4. – P. 629–635.

#### References

1. Foley R. N., Collins A. J. End stage renal disease in United states: an update from United States Renal Data System. *Journal of the American Society of Nephrology*, 2007, vol. 18, no. 10, pp. 2644–2648. <https://doi.org/10.1681/ASN.2007020220>
2. Pilotovich V. S., Kalachik O. V. Analysis of replacement renal therapy in nephrological patients in Rebrublic of Belarus. *Medicina [Medicine]*, 2011, vol. 73, no. 2, pp. 7–12 (in Russian).

3. Bikbov B. T., Tomilina N. A. About situation of replacement therapy of patients with chronic kidney failure in Russian Federation in 1998–2003]. *Nefrologiya i dializ* [Nephrology and dialysis], 2005, vol. 7, no. 3, pp. 204–275 (in Russian).

4. Hakim R. M. Reducing early mortality in hemodialysis patients. *Current Opinion in Nephrology and Hypertension*, 2008, vol. 17, no. 6, pp. 595–599. <https://doi.org/10.1097/mnh.0b013e3283136746>

5. Pipias M., Stel V. S., Abad Diez J. M., Afentakis N., Herrero-Calvo J. A., Arias M. [et al.]. Renal replacement therapy in Europe – a summary of the 2012 ERA-EDTA registry annual report. *Clinical Kidney Journal*, 2015, vol. 8, no. 3, pp. 248–261. <https://doi.org/10.1093/ckj/sfv014>

6. Brodowska-Kania D., Rymarz A., Gibin'ski K., Kielczewska J., Smoszna J., Saracyn M., Szamotulska K., Niemczyk S. First year survival of patients on maintain dialysis treatment in Poland. *Nagoya Journal of Medical Science*, 2015, vol. 77, no. 4, pp. 629–635.

### **Информация об авторе**

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

### **Information about the author**

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

ISSN 1814-6023 (Print)  
ISSN 2524-2350 (Online)  
УДК 576.3  
<https://doi.org/10.29235/1814-6023-2020-17-1-55-63>

Паступіў у рэдакцыю 16.10.2019  
Received 16.10.2019

**А. Б. Астроўская, Р. І. Краўчук, М. М. Курбат**

*Гродзенскі дзяржаўны медыцынскі ўніверсітэт, Гродна, Рэспубліка Беларусь*

### **АСАБЛІВАСЦІ ЎЛЬТРАСТРУКТУРЫ ПЕЧАЊІ ПАЦУКОЎ ПРЫ ЎЗДЗЕЯЊННІ АНТЫРЭТРАВІРУСНАГА ПРЭПАРАТА ТЭНАФАВІРА ДЗІСАПРАКСІЛ ФУМАРАТ У СПАЛУЧЭННІ З S-АДЭНАЗІЛМЕТЫЯЊНАМ**

**Анотацыя.** Описаны ультраструктурные изменения печени крыс при 7- и 21-суточном внутривенном введении *тенофовира дизопроксил фумарат* (tenofovir disoproxil fumarate, TDF) в дозе 50 мг/кг/сут и при коррекции выявленных нарушений S-аденозилметионином (S-adenosylmethionine, SAM).

Воздействие TDF в течение 7 сут вызывает слабо выраженные дистрофические изменения небольшой доли гепатоцитов. После 21-суточного воздействия TDF в гепатоцитах перипортальных зон отмечается развитие умеренно выраженной дистрофии со снижением белок-синтетической функции и слабо выраженными изменениями структуры митохондрий. При обоих сроках введения TDF провоцирует гибель единичных клеток паренхимы печени и реактивную внутридольковую воспалительную инфильтрацию. Использование SAM на фоне длительного назначения TDF не приводит к снижению интенсивности внутридольковой инфильтрации печени, но предотвращает развитие дистрофии перипортальных гепатоцитов, нормализует количество липидных включений в паренхиматозных клетках органа.

**Ключевые слова:** печень, ультраструктура, tenofovir disoproxil fumarate, S-adenosylmethionine

**Для цитирования:** Астроўская, А. Б. Асаблівасці ўльтраструктуры печані пацукоў пры ўздзеянні антырэтравіруснага прэпарата тэнафавіра дзісапраксіл фумарат у спалучэнні з S-адэназілметыянінам / А. Б. Астроўская, Р. І. Краўчук, М. М. Курбат // Вест. Нац. акад. навук Беларусі. Сер. мед. навук. – 2020. – Т. 17, № 1. – С. 55–63. <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2020-17-1-55-63>

**Aksana B. Astrowskaja, Ryma I. Krauchuk, Mikhail M. Kurbat**

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

### **FEATURES OF LIVER ULTRASTRUCTURE OF RAT EXPOSED BY ANTIRETROVIRAL DRUG TENOFIVIR DISOPROXIL FUMARATE IN COMBINATION WITH S-ADENOSYLMETHIONINE**

**Abstract.** Ultrastructural changes in the liver of rats after 7- and 21-days intragastric administration of tenofovir disoproxil fumarate (TDF) at a dose of 50 mg/kg/daily and correction of the revealed violations by S-adenosylmethionine (SAM) were described. Exposure of TDF for 7 days causes mild dystrophic changes in a small proportion of hepatocytes. The 21-day effect of TDF in the hepatocytes of the periportal zones shows the development of moderately pronounced dystrophy with a decrease in protein-synthetic function and slight changes in the structure of mitochondria. At both periods of administration, TDF leads to the death of single cells of the liver parenchyma and reactive intralobular inflammatory infiltration. The use of SAM on long-term administration of TDF does not reduce the intensity of core liver infiltration, but prevents the development of dystrophy of periportal hepatocytes and normalizes the amount of lipid inclusions in parenchymal cells of the organ.

**Keywords:** liver, ultrastructure, tenofovir disoproxil fumarate, S-adenosylmethionine

**For citation:** Astrowskaja A. B., Krauchuk R. I., Kurbat M. M. Features of liver ultrastructure of rat exposed by antiretroviral drug tenofovir disoproxil fumarate in combination with S-adenosylmethionine. *Vesti Natsyyanal'nai akademii nauk Belarusi. Seriya meditsinskikh nauk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2020, vol. 17, no. 1, pp. 55–63 (in Belarusian). <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2020-17-1-55-63>

**Уводзіны.** Выкарыстанне антырэтравіруснай тэрапіі (АРТ) дазваляе падтрымліваць дастаткова высокую якасць жыцця пацыентаў з ВІЧ-інфекцыяй і істотна зніжаць паказчыкі смяротнасці. Тэнафавіра дзісапраксіл фумарат (Tenofovir disoproxil fumarate, TDF) з'яўляецца біядасягальным папярэднікам тэнафавіра – нуклеазід-аналагавага інгібітара зваротнай транскрыптазы [1, 2], які Сусветная арганізацыя аховы здароўя рэкамендуе ў якасці прэпарата АРТ першай лініі для дарослых [3, 4].

Адной з істотных пераваг TDF перад шэрагам іншых супрацьвірусных прэпаратаў, выкарыстоўваемых для лячэння ВІЧ-інфекцыі, з'яўляецца яго станоўчы ўплыў на ліпідны абмен. Шырока вядома, што АРТ звязана з небяспекай развіцця ліпадыстрафіі [5], а таксама з негатыўнымі зменамі ліпіднага профілю, якія правакуюць кардыяваскулярную паталогію [6]. Увядзенне ў пратакол лячэння TDF прыводзіць да павольнай рэгрэсіі перыферычнай ліпаатрафіі [5], памяншае рызыку ўзнікнення ў пацыентаў падвышанага ўзроўню агульнага халестэрыну [7], што садзейнічае прафілактыцы ліпадыстрафіі і кардыяваскулярнай паталогіі пры лячэнні пацыентаў з вірусам імунадэфіцыта чалавека (ВІЧ).

Тэнафавір праяўляе актыўнасць як супраць ВІЧ, так і супраць віруса гепатыта В (ВГВ) [1, 2]. Гэта абумоўлівае неабходнасць выкарыстання TDF для лячэння пацыентаў з ВІЧ-ВГВ-каінфекцыяй, якая не з'яўляецца рэдкасцю ў сувязі з аднастайнасцю эпідэміялагічных характарыстык абодвух вірусаў. Каінфіцыраваныя пацыенты, якія атрымліваюць АРТ, маюць больш высокую рызыку пачоначных пабочных эфектаў у параўнанні з ВІЧ-монаінфікаванымі, што патрабуе ранняга прызначэння адэкватнай тэрапіі супраць віруса гепатыта з выбарам лекавых сродкаў нізкай гепататаксічнасці [8]. Выкарыстанне TDF у схемах АРТ ВІЧ-ВГВ-каінфікаваных пацыентаў вядзе да зніжэння рэплікацыі ВГВ і стрымлівае прагрэсію хранічнага віруснага гепатыта [8–10]. Акрамя таго, TDF эфектыўны ў лячэнні пацыентаў з ламівудзін-рэзістэнтным хранічным ВГВ [11].

У сувязі з тым, што пры ВІЧ-інфекцыі лячэнне праводзіцца пажыццёва, АРТ-прэпараты павінны мець мінімальную колькасць негатыўных пабочных эфектаў. Згодна з вынікамі рандамізаваных клінічных выпрабаванняў, TDF не праяўляе істотнай гепататаксічнасці, а яго негатыўны ўплыў заключаецца галоўным чынам у зніжэнні клубочкавай фільтрацыі і памяншэнні ступені касцявой мінералізацыі [12]. Разам з тым прысутнічаюць асобныя паведамленні аб развіцці выразнага пашкоджання печані пры трохкампанентнай АРТ, якая ўключала TDF [13], а таксама пры выкарыстанні тэнафавіра ў лячэнні хранічнага ВГВ [14].

Даныя, атрыманыя ў эксперыментах на жывёлах, сведчаць, што доўгатэрміновае ўвядзенне TDF можа справакаваць падвышэнне ўзроўню малонавага дзіальдэгіду ў тканцы печані [15], істотныя зрухі ў экспрэсіі цэлага шэрагу генаў гепатацытаў, у тым ліку ўзрастанне экспрэсіі рэтынол-дэгідрагеназы [16], а таксама марфалагічныя змены ў выглядзе пашырэння сінусоідаў і вакуалізацыі гепатацытаў [17].

Такім чынам, пытанне аб механізмах негатыўнага ўплыву TDF на печань і пошуку пратэктывных сродкаў, здольных супрацьстаяць пашкоджанню органа пры доўгатэрміновым выкарыстанні прэпарата, застаецца актуальным. Пры гэтым у дасягальнай навуковай літаратуры адсутнічаюць даныя аб уплыве тэнафавіра на ўльтраструктуру печані.

Мэта даследавання – вывучыць уплыў тэнафавіра дызапраксіл фумарат на ўльтраструктурныя характарыстыкі печані пацукоў і ацаніць магчымасць карэкцыі выяўленых парушэнняў з дапамогай S-адэназілметэяніна.

**Матэрыялы і метады даследавання.** Правядзенне даследавання ўзгоднена з камітэтам па біямедыцынскай этыцы УА «Гродзенскі дзяржаўны медыцынскі ўніверсітэт» (пратакол № 2 ад 06.01.2015 г.).

Эксперымент выкананы на 24 белых нелінейных пацуках-самцах масай 280–320 г, якія ўтрымліваліся на стандартным рацыёне віварыя. Жывёлы былі падзелены на 4 групы, па 6 асобін у кожнай. TDF уводзілі ўнутрыстраўнікава ў выглядзе суспензіі ў 0,9 %-ным раствору NaCl. Жывёлы груп «TDF-7» і «TDF-21» атрымлівалі прэпарат у дозе 50 мг/кг/сут на працягу 7 і 21 сут адпаведна. Пацукі групы «TDF-21 + SAM» падвяргаліся ўздзеянню TDF у той жа дозе на працягу 21 сут і атрымлівалі SAM у дозе 10 мг/кг/сут на працягу 14 сут, пачынаючы з 8-х сутак ад пачатку ўвядзення тэнафавіра. Жывёлам групы «Кантроль» уводзілі эквіаб'ёмную колькасць фізіялагічнага раствору. Забой пацукоў ажыццяўлялі шляхам дэкапітацыі гільятынным спосабам з забарам тканкі печані. Атрыманы матэрыял фіксавалі ў 10 %-ным забуфераным фармаліне; парафінавыя зрэзы афарбоўвалі гематаксілінам і эзінам для светлавой мікраскапіі. Для электронна-мікраскапічнага даследавання фрагменты печані фіксавалі ў 1 %-ным осміевым фіксатары на працягу 2 гадзін, абязводжвалі і залівалі ў аралдыт. Напаўтонкія (таўшчынёй

0,35 мкм) і ўльтратонкія (40 нм) зрэзы атрымлівалі на ультрамікратоме Leica EM UC7 (Leica, Германія). Першыя афарбоўвалі метыленавым сінім і выкарыстоўвалі для падліку адноснага ўтрымання ліпідаў (аб'ектыў  $\times 40$ ). Ультратонкія зрэзы кантрасціравалі ўранілацэтатам і цытра-там свінца і вывучалі ў электронным мікраскопе JEM-1011 (JEOL, Японія). Для морфаметрыі здымкаў выкарыстоўвалі праграму iTEM (JEOL, Японія). Атрыманыя даныя апрацоўвалі метадамі непараметрычнай статыстыкі (Statistica 10.0 (№ AXAR207F394425FA-Q)). Адрозненні паміж групамі лічылі дакладнымі пры  $p < 0,05$  (Mann–Whitney  $U$ -test).

**Вынікі і іх абмеркаванне.** Гісталагічная карціна пячоначнай тканкі жывёл групы «Кантроль» у цэлым адпавядала структуры печані інтактных пацукоў. Аднак у 2 пацукоў з групы назіралася паўнакроўнасць асобных цэнтральных вен і сінусоідаў вакол іх, а таксама вельмі рэдка сустракаліся адзінкавыя невялікія (да 15 клетак) асяродкі лімфацытарна-макрафагальнай інфільтрацыі, якія размяшчаліся інтэрмедыяльна ці перыцэнтральна. У злучальнай тканцы партальных трактаў прысутнічалі нешматлікія монануклеары.

Адносная аб'ёмная доля ліпідных уключэнняў, падлічаная на напаўтонкіх зрэзах тканкі печані, складала каля 0,5 % (гл. табліцу). Тлушчавыя кроплі невялікага памеру размяшчаліся на сасудзістых палюсах гепатацытаў і на зрэзе печані размяркоўваліся раўнамерна (мал. 1, а).

**Марфаметрычныя параметры гепатацытаў (Me [LQ; UQ], Мана–Уітні тэст)**

**Morfametry parameters of hepatocytes (Me [LQ; UQ], Mana–Uitny test)**

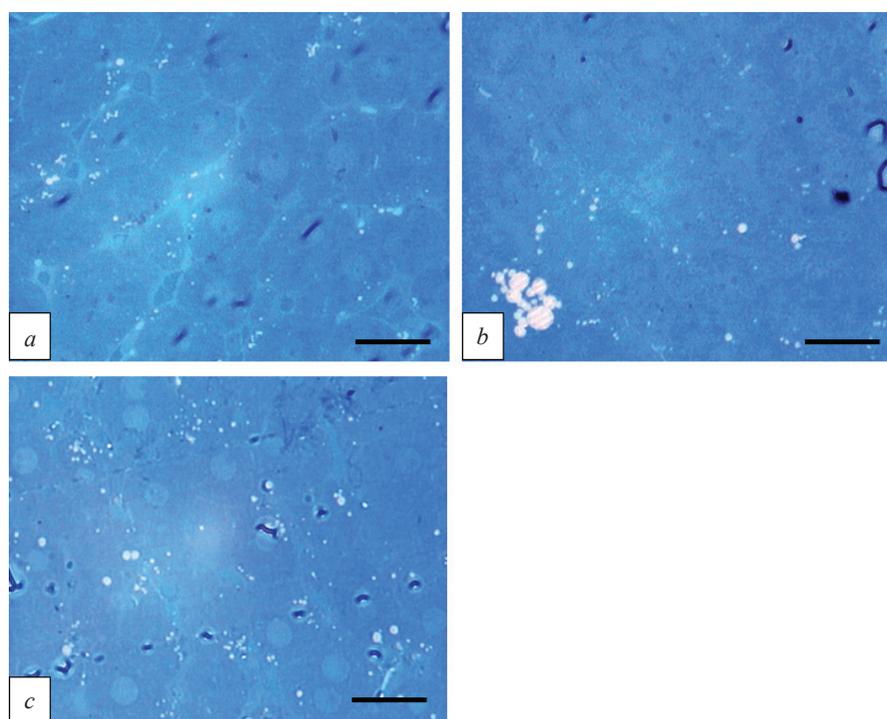
Марфаметрычны параметр	Кантроль	TDF-7	TDF-21	TDF+SAM
<i>Ліпідныя ўключэнні</i>				
Адносная плошча ліпідных уключэнняў на адзінку плошчы цытаплазмы, %	0,49 [0,37; 0,61]	0,32 [0,16; 0,45]	0,34 [0,31; 0,39]	0,61 [0,49; 0,65] $p_{TDF-21} = 0,0339, p_{TDF-7} = 0,0495$
<i>Мітахондрыі</i>				
Адносная сумарная плошча сячэнняў мітахондрыі на адзінку плошчы цытаплазмы, %	26,7 [24,1; 28,0]	25,6 [24,7; 28,9]	22,4 [21,9; 26,8]	26,8 [25,1; 27,9]
Колькасць мітахондрыі на 100 мкм <sup>2</sup> цытаплазмы, шт.	83,0 [77,6; 88,5]	87,4 [80,3; 94,2]	84,2 [79,0; 90,1]	101,8 [82,9; 104,6]
Плошча сячэння мітахондрыі, мкм <sup>2</sup>	0,32 [0,29; 0,34]	0,30 [0,28; 0,33]	0,28 [0,26; 0,30]	0,26 [0,25; 0,34]
Перыметр мітахондрыі, мкм	2,21 [2,06; 2,32]	2,18 [2,08; 2,21]	2,02 [1,98; 2,12]	1,95 [1,94; 2,25]
Суадносіны бакоў мітахондрыі	1,70 [1,64; 1,81]	1,63 [1,59; 1,71]	1,66 [1,64; 1,72]	1,70 [1,56; 1,79]
Фактар элангацыі мітахондрыі	1,74 [1,66; 1,86]	1,67 [1,62; 1,74]	1,68 [1,68; 1,76]	1,75 [1,59; 1,85]
Адносная электронная шчыльнасць мітахондрыі	112,4 [106,3; 116,3]	107,7 [103,8; 114,6]	93,7 [91,3; 104,7]	97,7 [96,0; 100,2]
Дыяметр эквівалентнага круга мітахондрыі, мкм	0,60 [0,5; 0,62]	0,60 [0,58; 0,62]	0,58 [0,55; 0,60]	0,55 [0,53; 0,61]
Максімальны дыяметр мітахондрыі, мкм	0,81 [0,75; 0,87]	0,80 [0,77; 0,81]	0,73 [0,72; 0,79]	0,72 [0,71; 0,84]
Мінімальны дыяметр мітахондрыі, мкм	0,49 [0,46; 0,51]	0,50 [0,47; 0,51]	0,47 [0,45; 0,4]8	0,46 [0,44; 0,51]
Сярэдні дыяметр мітахондрыі, мкм	0,72 [0,67; 0,77]	0,71 [0,68; 0,72]	0,65 [0,64; 0,69]	0,64 [0,63; 0,74]
Сферычнасць мітахондрыі	0,42 [0,39; 0,44]	0,45 [0,41; 0,47]	0,42 [0,41; 0,45]	0,43 [0,40; 0,47]
Фактар формы мітахондрыі	0,78 [0,76; 0,80]	0,80 [0,79; 0,80]	0,80 [0,79; 0,81]	0,78 [0,76; 0,81]
Сумарная даўжыня крыст у адной мітахондрыі, мкм	2,09 [1,49; 2,49]	1,52 [1,25; 1,70]	1,42 [1,29; 1,48]	1,15 [1,05; 1,58]
Колькасць крыст у адной мітахондрыі, шт.	11,33 [8,11; 12,03]	8,34 [7,40; 9,40]	7,75 [7,58; 7,88]	7,40 [6,00; 10,20]

Канчатаяк табліцы

Марфаметрычны параметр	Кантроль	TDF-7	TDF-21	TDF+SAM
Даўжыня адной крысты, мкм	0,185 [0,184; 0,185]	0,177 [0,167; 0,183]	0,183 [0,171; 0,188]	0,156 [0,155; 0,175] $p_{\text{кантр}} = 0,0253$
Каэфіцыент унутраных мембран мітахондрый, мкм <sup>-1</sup>	4,9 [4,4; 5,9]	4,7 [4,1; 5,7]	4,3 [4,3; 5,3]	4,6 [4,3; 5,3]

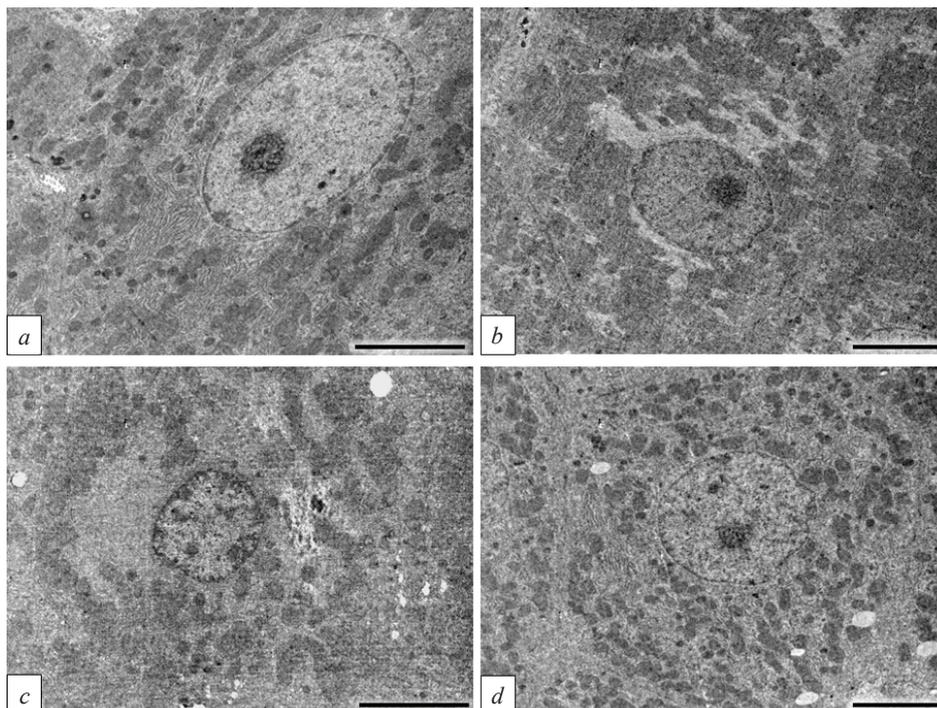
Пры вывучэнні ўльтраструктуры печані выяўлена, што ядры гепатацытаў былі правільнай акруглай ці авальнай формы, утрымлівалі 1–2 ядзеркі з развітым гранулярным кампанентам (мал. 2, *a*). Мітахондры гепатацытаў шматлікія, у асноўным авальнай формы, нярэдка падоўжаныя, з мноствам крыст. У парэнхіматозных клетках быў добра развіты гранулярны эндаплазматычны рэтыкулум, комплекс Гольджы з умеранай колькасцю везікул. Стэлатныя клеткі печані знаходзіліся ў неактыўным ці пераходным стане. Клеткі Купфера ўтрымлівалі ў асноўным першасныя лізасомы.

Пасля 7-сутачнага ўвядзення TDF (група «TDF-7»), у адрозненне ад кантролю, у большасці жывёл выяўляліся асяродкі лімфocyтарна-макрафагальнай інфільтрацыі ў некаторых долях. Інфільтраты размяшчаліся пераважна інтэрмедыяльна, пры гэтым сустракаліся як дробнага і сярэдняга памеру асяродкі, так і (вельмі рэдка) буйныя (больш за 30 клетак). Сярод клетак інфільтрату часам выяўляліся апаптозныя гепатацыты, а прылеглыя да асяродка парэнхіматозныя клеткі нярэдка адрозніваліся падвышанай аксіфільнасцю і гамагенізацыяй цытаплазмы. У асобных жывёл адзначалася ўмераная лімфоідная інфільтрацыя адзінкавых партальных трактаў. Назіралася паўнакроўнасць часткі цэнтральных вен з навакольнымі сінусоідамі. Адносная аб'ёмная доля ліпідных уключэнняў у тканцы печані пасля 7-сутачнай экспазіцыі TDF знізілася



Мал. 1. Ліпідныя ўключэнні гепатацытаў у групах: *a* – «Кантроль» (раўнамернае размеркаванне невялікіх тлушчавых кропляў у тканцы печані); *b* – «TDF-21» (малая колькасць ліпідных уключэнняў у большасці гепатацытаў з накупленнем буйных кропляў у асобных клетках); *c* – «TDF-21 + SAM» (павелічэнне колькасці ліпідных кропляў у тканцы печані, іх раўнамернае размеркаванне). Мерны адрэзак – 20 мкм

Fig. 1. Lipid inclusions of hepatocytes in the groups: *a* – control (uniform distribution of small fat droplets in the liver tissue); *b* – TDF-21 (a small amount of lipid inclusions in most hepatocytes with the accumulation of large drops in individual cells); *c* – TDF-21 + SAM (the increase in the number of lipid drops in the liver tissue, their uniform distribution). Bar = 20 μm



Мал. 2. Ультраструктура гепатацытаў у групам: *a* – «Кантроль»; *b* – «TDF-7» (лакальная «спустошанасць» цытаплазмы); *c* – «TDF-21» (выразная «спустошанасць» цытаплазмы з адцісканнем арганоідаў на перыферыю клеткі); *d* – «TDF-21 + SAM» (раўнамернае размеркаванне арганоідаў у цытаплазме гепатацыта). Мерны адрэзак – 5 мкм

Fig. 2. Ultrastructure of hepatocytes in the groups: *a* – control; *b* – TDF-7 (local “emptiness” of cytoplasm); *c* – TDF-21 (a clear “emptiness” of the cytoplasm from the push-ups of organelles on the periphery of the cell); *d* – TDF-21 + SAM (a uniform distribution of organelles in the cytoplasm of hepatocytes). Bar = 5 μm

на 33 % ад кантрольных значэнняў, аднак змены не былі дакладнымі ( $p = 0,1573$ ) (гл. табліцу). Пры гэтым на фоне агульнага дыфузнага памяншэння колькасці і памераў ліпідных уключэнняў назіралася выразнае накапленне буйных ліпідных кропляў у адзінкавых асобных размешчаных гепатацытах, што сведчыць аб развіцці іх тлушчавай дыстрафіі.

Электронна-мікраскапічнае даследаванне паказала, што пасля 7-сутачнага ўвядзення TDF амаль паўсюдна гепатацыты мелі ўльтраструктуру, падобную да кантрольнай. Разам з тым у часткі жывёл часам сустракаліся клеткі з лакальнай «спустошанасцю» цытаплазмы, што гаворыць аб ініцыяцыі ў іх дыстрафічных працэсаў. Як правіла, мітахондрыі гепатацытаў мелі авальную або падоўжаную форму з мноствам крыст. Па даным марфаметрыі, не выяўлена якіх-небудзь дакладных адрозненняў у насычанасці клеткі мітахондрыямі, а таксама ў памерах і форме гэтых арганэл (гл. табліцу). Вельмі рэдка сустракаліся змененыя мітахондрыі, аднак часам можна было назіраць утварэнне аўтафагасом, якія змяшчалі гэтыя арганоіды, што можа сведчыць аб актывацыі мітафагіі. Некаторыя гепатацыты характарызаваліся назапашваннем ліпафусцынавых уключэнняў на біліярным полюсе, што сведчыць аб актывацыі працэсаў дэградацыі цытаплазматычных кампанентаў.

Большасць стэлатных клетак печані мела нешматлікія ліпідныя кроплі, часта – выцягнутую форму, што адпавядае іх функцыянальна актыўнаму стану. У непасрэднай блізкасці ад стэлатных клетак нярэдка знаходзіліся невялікія калагенавыя пучкі, аднак у цэлым не назіралася істотнага падвышэння колькасці інтэрстыцыяльных калагенавых валокнаў. Клеткі Купфера знаходзіліся пераважна ў актываваным стане, утрымлівалі рознага памеру фагалізасомы. Сустракаліся адзінкавыя ўнутрысасудзістыя скапленні лімфацытаў і макрафагаў, якія часам размяшчаліся вакол некратызаваных гепатацытаў.

У большасці жывёл групы «TDF-21» назіралася ў рознай ступені выяўленая дыстрафія перыпартальных гепатацытаў у выглядзе «спустошанасці» цытаплазмы клеткі ў ваколядравай

зоне. Часта адзначалася слабавыяўленае (часам умеранае) узмацненне лімфоіднай інфільтрацыі партальных трактаў. У нешматлікіх дольках прысутнічалі адзінкавыя дробныя ці сярэдняга памеру асяродкі інфільтрацыі, якія размяшчаліся пераважна інтэрмедыяльна. Гепатацыты, якія знаходзіліся ўнутры ці непасрэдна каля інфільтратаў, часта мелі адзнакі дэгенерацыі цытаплазмы і апаптатычна змененыя ядры. Назіралася паўнакроўнасць часткі цэнтральных вен і прылеглых да іх сінусоідаў. Адноснае ўтрыманне ліпідаў пасля 21-сутачнага прымянення TDF працягвала заставацца недаставерна зніжаным адносна кантролю (на 31 % ( $p = 0,1489$ )) (гл. табліцу), размеркаванне тлушчавых уключэнняў у гепатацытах было аналагічна іх размеркаванню ў групе «TDF-7» (мал. 1).

Электронна-мікраскапічнае даследаванне паказала, што пасля 21-сутачнага ўвядзення TDF у печані нярэдка сустракаліся гепатацыты, у якіх ядры мелі няроўны контур і/ці гіпаплазіраванае ядзерка, пазбаўленае гранулярнага кампанента, што сведчыць аб зніжэнні бялок-сінтэтычнай функцыі клеткі (мал. 2, с). У большасці жывёл групы частка гепатацытаў характарызувалася наяўнасцю выразнай лакальнай «спустошанасці» цытаплазмы пераважна ў ваколядравай зоне з назапашваннем там глікагенавых гранул. Пры гэтым мітахондры і іншыя арганэлы былі адціснуты на перыферыю клеткі. Насычанасць цытаплазмы мітахондрыямі памяншалася. Як вынікае з марфаметрычных даных, аб'ёмная шчыльнасць гэтых арганэл у цытаплазме ў параўнанні з кантрольным паказчыкам зніжалася на 16 % за кошт памяншэння памераў мітахондрий (на 12 % ад кантролю) (гл. табліцу). Хаця гэтыя адрозненні не былі дакладнымі, яны могуць сведчыць пра зрух мітахондрийнай дынамікі ў бок перавагання дзялення арганэл над іх зліццём. Вядома, што многія паталагічныя чыннікі, такія як уздзеянне этанолу, халестаза, персістэнцыя віруса гепатыта С, здольны ўплываць на мітахондрийную дынаміку гепатацытаў шляхам тармажэння зліцця арганэл ці стымуляцыі іх дзялення [18–20]. Разам з тым у апісаных вышэй гепатацытах, якія характарызуваліся дыстрафічнымі парушэннямі, зрэдку сустракаліся змененыя мітахондрыі: з няроўнымі контурамі, прасвятленнем матрыкса і рэдукцыяй крыст.

У некаторых парэнхіматозных клетках назіралася назапашванне ліпідалізавам. У асобных жывёл дадзенай групы ў цытаплазме гепатацытаў сустракаліся буйныя, аточаныя мембранай уключэнні, якія ўтрымлівалі ядзерны матэрыял і змененыя мітахондрыі, што характэрна для завяршальнага этапу апоптозу клеткі, калі ўтвораныя апаптозныя цельцы паглынаюцца суседнімі парэнхіматознымі клеткамі. Пры гэтым большасць клетак Купфера знаходзіліся ў актываваным стане, утрымлівалі шматлікія лізасомы і фагасомы. Пячоначныя стэлатныя клеткі, як правіла, мелі кампактную форму з мноствам ліпідных уключэнняў, што адпавядае неактыўнаму стану.

На гісталагічных прэпаратах жывёл групы «TDF-21+SAM», якія на фоне ўвядзення тэнафавіра атрымлівалі S-адэназілметыянін, у невялікай частцы долек выяўляліся адзінкавыя дробныя ці сярэдняга памеру лімфацытарна-макрафагальныя інфільтраты. Назіралася слабае ці ўмеранае ўзмацненне лімфоіднай інфільтрацыі большасці партальных трактаў, адзначалася дыфузная лімфа-макрафагальная інфільтрацыя. Адносная аб'ёмная доля ліпідных уключэнняў склала 125 % ад кантрольнай ( $p = 0,4795$ ) і дакладна адрознівалася ад аналагічнага паказчыка ў групе «TDF-21» ( $p = 0,0495$ ) (гл. табліцу).

Пры электронна-мікраскапічным даследаванні печані жывёл групы «TDF-21 + SAM» большасць гепатацытаў мела непарушаную ўльтраструктуру, але сустракаліся асобныя клеткі, у якіх ядро ўтрымлівала гіпаплазіраванае ядзерка. У адрозненне ад групы «TDF-21», у групе «TDF-21 + SAM» ні ў адной з жывёл не назіралася дыстрафічных зменаў цытаплазмы гепатацытаў у выглядзе яе лакальнай «спустошанасці», а арганойды ў гіалаплазме заўсёды размяшчаліся раўнамерна. Адзначалася ўмераная гіперплазія гладкага эндаплазматычнага рэтыкулуму, што з'яўляецца адзнакай актывацыі дэтаксікацыйных працэсаў у клетцы. Мітахондрыі гепатацытаў звычайна былі невялікага памеру, авальнай ці падоўжанай формы, зрэдку сустракаліся змененыя арганэлы. Марфаметрычнае даследаванне структурных параметраў мітахондрий паказала найменшыя памеры мітахондрий сярод жывёл усіх вывучаных груп, а таксама даставернае скарачэнне сярэдняй даўжыні адной крысты ў параўнанні з кантролем (гл. табліцу). Аднак такія інтэгральныя паказчыкі, як адносны сумарны аб'ём мітахондрий у цытаплазме і каэфіцыент унутраных мембран мітахондрий, які адлюстроўвае насычанасць цытаплазмы функцыянальна значнымі

мітахандрыяльнымі мембранамі, былі большымі, чым у групе без карэкцыі, і набліжаліся да кантрольных значэнняў. Апошняе было забяспечана пэўным падвышэннем колькасці арганэл у цытаплазме (гл. табліцу). Такім чынам, пры сумесным увядзенні TDF і S-адэназілметыяніна ў гепатацытах назіраецца яшчэ больш істотны зрух мітахандрыяльнай дынамікі ў бок перавагі дзялення мітахондрыя над іх зліццём, чым у групе без карэкцыі. Але, калі ўлічыць наяўнасць станоўчых змен ультраструктурных характарыстык клетак пад уплывам SAM, апісаныя зрухі мітахандрыяльнай дынамікі можна разглядаць як адаптацыю для нармалізацыі энергазабеспячэння клеткі. Некаторыя даследчыкі адзначаюць, што інтэнсіфікацыя дзялення мітахондрыя не заўсёды мае негатыўныя наступствы, але таксама можа абараняць клеткі ад смерці, выкліканай аксідатыўным стрэсам [21].

Пры гэтым, нягледзячы на адсутнасць выразных адзнакаў дыстрафіі гепатацытаў, у печані жывёл апісваемай групы часам назіраліся прыкметы гібелі асобных парэнхіматозных клетак, што было ўласціва і для жывёл групы «TDF-21». Часцей, чым у групе без карэкцыі, у сінусоідах сустракаліся лімфацыты і актывізаваныя макрафагі. Стэлатныя клеткі печані знаходзіліся ў неактыўным стане, як і ў жывёл, якія атрымлівалі TDF па аналагічнай схеме, але без карэкцыі.

**Заклучэнне.** Увядзенне TDF у азначанай дозе на працягу 7 сут выклікае ў печані слаба выяўленыя дыстрафічныя змены невялікай долі гепатацытаў, некаторую інтэнсіфікацыю ў іх працэсаў мітафагіі і дэградацыі клеткавых кампанентаў, а таксама гібель адзінкавых гепатацытаў з рэактыўным запаленнем, лакальныя парушэнні мікрацыркуляцыі і пэўную актыўнасць фібрагенэзу.

Пасля 21-сутачнай экспазіцыі тэнафавірам распаўсюджанасць выпадкаў гібелі гепатацытаў і звязанай з гэтым асяродкавай інфільтрацыі параўнальная з такой у групе «TDF-7». У гепатацытах адзначаецца зніжэнне бялок-сінтэтычнай функцыі, развіццё ўмерана выяўленай дыстрафіі з невялікімі зменамі структуры мітахондрыя і актывацыяй дэградацыі клеткавых структур.

Выкарыстанне SAM на фоне працяглага прызначэння TDF перашкаджае развіццю дыстрафіі перыпартальных гепатацытаў, нармалізуе колькасць ліпідных уключэнняў у парэнхіматозных клетках органа, але не прыводзіць да зніжэння інтэнсіўнасці запаленчай нутрыдолькавай і перыпартальнай інфільтрацыі печані.

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

### Спіс выкарыстаных крыніц

1. Gallant, J. E. Tenofovir disoproxil fumarate / J. E. Gallant, S. Deresinski // *Clin. Infect. Dis.* – 2003. – Vol. 37, N 7. – P. 944–950. <https://doi.org/10.1086/378068>
2. Fung, H. B. Tenofovir disoproxil fumarate: a nucleotide reverse transcriptase inhibitor for the treatment of HIV infection / H. B. Fung, E. A. Stone, F. J. Piacenti // *Clin. Ther.* – 2002. – Vol. 24, N 10. – P. 1515–1548. [https://doi.org/10.1016/s0149-2918\(02\)80058-3](https://doi.org/10.1016/s0149-2918(02)80058-3)
3. Consolidated guidelines on the use of antiretroviral drugs for treating and preventing HIV infection, June 2016. [Electronic resource] // World Health Organization Geneva, Switzerland. – Mode of access : <https://www.who.int/hiv/pub/arv/arv-2016/en/>. – Date of access : 31.05.2019.
4. Updated recommendations on first-line and second-line antiretroviral regimens and post-exposure prophylaxis and recommendations on early infant diagnosis of HIV, December 2018. [Electronic resource] // World Health Organization, Geneva, Switzerland. – Mode of access : <https://www.who.int/hiv/pub/guidelines/ARV2018update/en/>. – Date of access : 31.05.2019.
5. Improvements in subcutaneous fat, lipid profile, and parameters of mitochondrial toxicity in patients with peripheral lipodystrophy when stavudine is switched to tenofovir (LIPOTEST study) / E. Ribera [et al.] // *HIV Clin. Trials.* – 2008. – Vol. 9, N 6. – P. 407–417. <https://doi.org/10.1310/hct0906-407>
6. Longitudinal analysis of the associations between antiretroviral therapy, viraemia and immunosuppression with lipid levels: the D:A:D study / D. A. Kamara [et al.] // *Antivir. Ther.* – 2016. – Vol. 21, N 6. – P. 495–506. <https://doi.org/10.3851/IMP3051>
7. Changes in elevated cholesterol in the era of tenofovir in South Africa: risk factors, clinical management and outcomes / L. Jamieson [et al.] // *HIV Med.* – 2017. – Vol. 18, N 8. – P. 595–603. <https://doi.org/10.1111/hiv.12495>
8. Kovari, H. Influence of antiretroviral therapy on liver disease / H. Kovari, R. Weber // *Curr. Opin. HIV AIDS.* – 2011. – Vol. 6, N 4. – P. 272–277. <https://doi.org/10.1097/COH.0b013e3283473405>
9. Five-year on-treatment efficacy of lamivudine-, tenofovir- and tenofovir + emtricitabine-based HAART in HBV-HIV-coinfected patients / L. Kosi [et al.] // *J. Viral. Hepat.* – 2012. – Vol. 19, N 11. – P. 801–810. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2893.2012.01601.x>

10. Alvarez-Uria, G. Long-term outcome of tenofovir disoproxil fumarate use against hepatitis B in an HIV-coinfected cohort / G. Alvarez-Uria, L. Ratcliffe, J. Vilar // *HIV Med.* – 2009. – Vol. 10, N 5. – P. 269–273. <https://doi.org/10.1111/j.1468-1293.2008.00683.x>
11. Randomized comparison of tenofovir disoproxil fumarate vs emtricitabine and tenofovir disoproxil fumarate in patients with lamivudine-resistant chronic hepatitis B / S. Fung [et al.] // *Gastroenterology.* – 2014. – Vol. 146, N 4. – P. 980–988. e1. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2013.12.028>
12. Comparative effectiveness of tenofovir in treatment-naïve HIV-infected patients: systematic review and meta-analysis / L. G. Hemkens [et al.] // *HIV Clin. Trials.* – 2015. – Vol. 16, N 5. – P. 178–189. <https://doi.org/10.1179/1945577115Y.0000000004>
13. Echenique, I. A. EFV/FTC/TDF-associated hepatotoxicity: a case report and review / I. A. Echenique, J. D. Rich // *Aids Patient Care STDs.* – 2013. – Vol. 27, N 9. – P. 493–497. <https://doi.org/10.1089/apc.2013.0008>
14. Kang, M. K. Tenofovir disoproxil fumarate-induced severe liver injury in a patient with chronic hepatitis B virus infection / M. K. Kang, J. G. Park // *Dig. Liver Dis.* – 2018. – Vol. 50, N 6. – P. 628–630. <https://doi.org/10.1016/j.dld.2018.03.013>
15. Effect of tenofovir, an antiretroviral drug, on hepatic and renal functional indices of Wistar rats: protective role of vitamin E / O. A. Adaramoye [et al.] // *J. Basic Clin. Physiol. Pharmacol.* – 2012. – Vol. 23, N 2. – P. 69–75. <https://doi.org/10.1515/jbcp.2011.0042>
16. Tenofovir disoproxil fumarate: toxicity, toxicokinetics, and toxicogenomics analysis after 13 weeks of oral administration in mice / H. H. Ng [et al.] // *Int. J. Toxicol.* – 2015. – Vol. 34, N 1. – P. 4–10. <https://doi.org/10.1177/1091581814565669>
17. Investigating organ toxicity profile of tenofovir and tenofovir nanoparticle on the liver and kidney: experimental animal study / A. I. Peter [et al.] // *Toxicol. Res.* – 2018. – Vol. 34, N 3. – P. 221–229. <https://doi.org/10.5487/TR.2018.34.3.221>
18. Mitochondrial morphology and dynamics in hepatocytes from normal and ethanol-fed rats / S. Das [et al.] // *Pflügers Arch.* – 2012. – Vol. 464, N 1. – P. 101–109. <https://doi.org/10.1007/s00424-012-1100-4>
19. Mitofusin 2 Protects hepatocyte mitochondrial function from damage induced by GCDCA / Y. Chen [et al.] // *PLoS ONE.* – 2013. – Vol. 8, N 6. – e65455. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0065455>
20. Hepatitis C virus triggers mitochondrial fission and attenuates apoptosis to promote viral persistence / S.-J. Kim [et al.] // *PNAS.* – 2014. – Vol. 111, N 17. – P. 6413–6418. <https://doi.org/10.1073/pnas.1321141111>
21. Mitochondrial division ensures the survival of postmitotic neurons by suppressing oxidative damage / Y. Kageyama [et al.] // *J. Cell Biol.* – 2012. – Vol. 197, N 4. – P. 535–551. <https://doi.org/10.1083/jcb.201110034>

## References

1. Gallant J. E., Deresinski S. Tenofovir disoproxil fumarate. *Clinical Infectious Diseases*, 2003, vol. 37, no. 7, pp. 944–950. <https://doi.org/10.1086/378068>
2. Fung H. B., Stone E. A., Piacenti F. J. Tenofovir disoproxil fumarate: a nucleotide reverse transcriptase inhibitor for the treatment of HIV infection. *Clinical Therapeutics*, 2002, vol. 24, no. 10, pp. 1515–1548. [https://doi.org/10.1016/s0149-2918\(02\)80058-3](https://doi.org/10.1016/s0149-2918(02)80058-3)
3. *World Health Organization. Consolidated guidelines on the use of antiretroviral drugs for treating and preventing HIV infection.* June 2016, Geneva, Switzerland. Available at: <https://www.who.int/hiv/pub/arv/arv-2016/en/> (accessed 31 May 2019).
4. *World Health Organization. Updated recommendations on first-line and second-line antiretroviral regimens and post-exposure prophylaxis and recommendations on early infant diagnosis of HIV.* December 2018, Geneva, Switzerland. Available at: <https://www.who.int/hiv/pub/guidelines/ARV2018update/en/> (accessed 31 May 2019).
5. Ribera E., Paradiñeiro J. C., Curran A., Sauleda S., García-Arumi E., Castella E. [et al.]. Improvements in subcutaneous fat, lipid profile, and parameters of mitochondrial toxicity in patients with peripheral lipoatrophy when stavudine is switched to tenofovir (LIPOTEST study). *HIV Clinical Trials*, 2008, vol. 9, no. 6, pp. 407–417. <https://doi.org/10.1310/hct0906-407>
6. Kamara D. A., Smith C., Ryom L., Reiss P., Rickenbach M., Phillips A. [et al.]. Longitudinal analysis of the associations between antiretroviral therapy, viraemia and immunosuppression with lipid levels: the D:A:D study. *Antiviral Therapy*, 2016, vol. 21, no. 6, pp. 495–506. <https://doi.org/10.3851/IMP3051>
7. Jamieson L., Evans D., Brennan A. T., Moyo F., Spencer D., Mahomed K., Maskew M., Long L., Rosen S., Fox M. P. Changes in elevated cholesterol in the era of tenofovir in South Africa: risk factors, clinical management and outcomes. *HIV Medicine*, 2017, vol. 18, no. 8, pp. 595–603. <https://doi.org/10.1111/hiv.12495>
8. Kovari H., Weber R. Influence of antiretroviral therapy on liver disease. *Current Opinion in HIV and AIDS*, 2011, vol. 6, no. 4, pp. 272–277. <https://doi.org/10.1097/COH.0b013e3283473405>
9. Kosi L., Reiberger T., Payer B. A., Grabmeier-Pfistershammer K., Strassl R., Rieger A., Peck-Radosavljevic M. Five-year on-treatment efficacy of lamivudine-, tenofovir- and tenofovir + emtricitabine-based HAART in HBV-HIV-coinfected patients. *Journal of Viral Hepatitis*, 2012, vol. 19, no. 11, pp. 801–810. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2893.2012.01601.x>
10. Alvarez-Uria G., Ratcliffe L., Vilar J. Long-term outcome of tenofovir disoproxil fumarate use against hepatitis B in an HIV-coinfected cohort. *HIV Medicine*, 2009, vol. 10, no. 5, pp. 269–273. <https://doi.org/10.1111/j.1468-1293.2008.00683.x>
11. Fung S., Kwan P., Fabri M., Horban A., Pelemis M., Hann H. W. [et al.]. Randomized comparison of tenofovir disoproxil fumarate vs emtricitabine and tenofovir disoproxil fumarate in patients with lamivudine-resistant chronic hepatitis B. *Gastroenterology*, 2014, vol. 146, no. 4, pp. 980–988.e1. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2013.12.028>
12. Hemkens L. G., Ewald H., Santini-Oliveira M., Bühler J. E., Vuichard D., Schandelmaier S., Stöckle M., Briel M., Bucher H. C. Comparative effectiveness of tenofovir in treatment-naïve HIV-infected patients: systematic review and meta-analysis. *HIV Clinical Trials*, 2015, vol. 16, no. 5, pp. 178–189. <https://doi.org/10.1179/1945577115Y.0000000004>

13. Echenique I. A., Rich J. D. EFV/FTC/TDF-associated hepatotoxicity: a case report and review. *Aids Patient Care and STDs*, 2013, vol. 27, no. 9, pp. 493–497. <https://doi.org/10.1089/apc.2013.0008>
14. Kang M. K., Park J. G. Tenofovir disoproxil fumarate-induced severe liver injury in a patient with chronic hepatitis B virus infection. *Digestive and Liver Disease*, 2018, vol. 50, no. 6, pp. 628–630. <https://doi.org/10.1016/j.dld.2018.03.013>
15. Adaramoye O. A., Adewumi O. M., Adesanoye O. A., Faokunla O. O., Farombi E. O. Effect of tenofovir, an antiretroviral drug, on hepatic and renal functional indices of Wistar rats: protective role of vitamin E. *Journal of Basic and Clinical Physiology and Pharmacology*, 2012, vol. 23, no. 2, pp. 69–75. <https://doi.org/10.1515/jbcpp.2011.0042>
16. Ng H. H., Stock H., Rausch L., Bunin D., Wang A., Brill S., Gow J., Mirsalis J. C. Tenofovir disoproxil fumarate: toxicity, toxicokinetics, and toxicogenomics analysis after 13 weeks of oral administration in mice. *International Journal of Toxicology*, 2015, vol. 34, no. 1, pp. 4–10. <https://doi.org/10.1177/1091581814565669>
17. Peter A. I., Naidu E. C., Akang E., Ogedengbe O. O., Offor U., Rambharose S., Kalhapure R., Chuturgoon A., Govender T., Azu O. O. Investigating organ toxicity profile of tenofovir and tenofovir nanoparticle on the liver and kidney: experimental animal study. *Toxicological Research*, 2018, vol. 34, no. 3, pp. 221–229. <https://doi.org/10.5487/TR.2018.34.3.221>
18. Das S., Hajnóczky N., Antony A. N., Csordás G., Gaspers L. D., Clemens D. L., Hoek J. B., Hajnóczky G. Mitochondrial morphology and dynamics in hepatocytes from normal and ethanol-fed rats. *Pflügers Archiv – European Journal of Physiology*, 2012, vol. 464, no. 1, pp. 101–109. <https://doi.org/10.1007/s00424-012-1100-4>
19. Chen Y., Lv L., Jiang Z., Yang H., Li S., Jiang Y. Mitofusin 2 protects hepatocyte mitochondrial function from damage induced by GCDCA. *PLoS ONE*, 2013, vol. 8, no. 6, e65455. <https://doi.org/10.1007/s00424-012-1100-4>
20. Kim S.-J., Syed G. H., Khan M., Chiu W.-W., Sohail M. A., Gish R. G., Siddiqui A. Hepatitis C virus triggers mitochondrial fission and attenuates apoptosis to promote viral persistence. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2014, vol. 111, no. 17, pp. 6413–6418. <https://doi.org/10.1073/pnas.1321141111>
21. Kageyama Y., Zhang Z., Roda R., Fukaya M., Wakabayashi J., Wakabayashi N., Kensler T. W., Reddy P. H., Iijima M., Sesaki H. Mitochondrial division ensures the survival of postmitotic neurons by suppressing oxidative damage. *Journal of Cell Biology*, 2012, vol. 197, no. 4, pp. 535–551. <https://doi.org/10.1083/jcb.201110034>

### Информация об авторах

*Островская Оксана Борисовна* – канд. биол. наук, доцент, ст. науч. сотрудник. Гродненский государственный медицинский университет (ул. Горького, 80, 230015, г. Гродно, Республика Беларусь). E-mail: [astrowskaja@gmail.com](mailto:astrowskaja@gmail.com)

*Кравчук Римма Ивановна* – канд. биол. наук, ст. науч. сотрудник. Гродненский государственный медицинский университет (ул. Горького, 80, 230015, г. Гродно, Республика Беларусь). E-mail: [rikravchuk@gmail.com](mailto:rikravchuk@gmail.com)

*Курбат Михаил Николаевич* – канд. мед. наук, доцент, заведующий лабораторией. Гродненский государственный медицинский университет (ул. Горького, 80, 230015, г. Гродно, Республика Беларусь). E-mail: [vwmisha@mail.ru](mailto:vwmisha@mail.ru)

### Information about the authors

*Aksana B. Astrowskaja* – Ph. D. (Biol.), Assistant Professor, Senior researcher. Grodno State Medical University (80, Gorky Str., 230015, Grodno, Republic of Belarus). E-mail: [astrowskaja@gmail.com](mailto:astrowskaja@gmail.com)

*Ryma I. Krauchuk* – Ph. D. (Biol.), Senior researcher. Grodno State Medical University (80, Gorky Str., 230015, Grodno, Republic of Belarus). E-mail: [rikravchuk@gmail.com](mailto:rikravchuk@gmail.com)

*Mikhail M. Kurbat* – Ph. D. (Med.), Assistant Professor, Head of the Laboratory. Grodno State Medical University (80, Gorky Str., 230015, Grodno, Republic of Belarus). E-mail: [vwmisha@mail.ru](mailto:vwmisha@mail.ru)

ISSN 1814-6023 (Print)

ISSN 2524-2350 (Online)

УДК 616.94-085.38: [612.111.1:577.112.3]

<https://doi.org/10.29235/1814-6023-2020-17-1-64-69>

Поступила в редакцию 18.06.2019

Received 18.06.2019

**Р. Э. Якубцевич<sup>1</sup>, Н. В. Белявский<sup>2</sup>, А. А. Глазев<sup>3</sup>, С. Д. Клиса<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>Гродненский государственный медицинский университет, Гродно, Республика Беларусь

<sup>2</sup>Гродненская областная клиническая больница, Гродно, Республика Беларусь

<sup>3</sup>Гродненский государственный университет имени Я. Купалы, Гродно, Республика Беларусь

## **ДИНАМИКА УРОВНЕЙ НЕЗАМЕНИМЫХ АМИНОКИСЛОТ В ПЛАЗМЕ КРОВИ ПАЦИЕНТОВ С СЕПСИСОМ НА ФОНЕ ПРИМЕНЕНИЯ МЕТОДОВ ЭКСТРАКОРПОРАЛЬНОЙ ДЕТОКСИКАЦИИ**

**Аннотация.** Экстракорпоральное очищение крови (ЭОК) является одним из направлений эффективной терапии сепсиса. Однако одним из недостатков этого метода считается возможное снижение концентрации в плазме крови ряда важных метаболитов. Так, известно, что нарушения обмена аминокислот при сепсисе проявляются расстройствами микроциркуляции, снижением иммунного ответа и увеличением смертности.

Цель исследования – изучить влияние ЭОК на динамику уровней незаменимых аминокислот в плазме крови у пациентов с сепсисом.

Обследовано 38 пациентов с диагнозом «сепсис», к которым применяли стандартные протоколы гемосорбции с различными сорбентами, плазмафильтрации, гемофильтрации. В ходе исследования выявлено достоверное снижение уровней валина, метионина, триптофана, изолейцина, фенилаланина, лейцина, лизина в группе пациентов, которым проводилась гемосорбция сорбентом «Протеазосорб». Установлено, что наибольшее влияние на динамику аминокислот оказывает гемосорбция с сорбентом «Протеазосорб».

**Ключевые слова:** незаменимые аминокислоты, сепсис, гемосорбция, гемофильтрация, плазмафильтрация

**Для цитирования:** Динамика уровней незаменимых аминокислот в плазме крови пациентов с сепсисом на фоне применения методов экстракорпоральной детоксикации / Р. Э. Якубцевич [и др.] // Вестн. Нац. акад. наук Беларуси. Сер. мед. наук. – 2020. – Т. 17, № 1. – С. 64–69. <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2020-17-1-64-69>

**Ruslan E. Yakubtsevich<sup>1</sup>, Nickolay V. Belyavsky<sup>2</sup>, Anton A. Glazev<sup>3</sup>, Sergey D. Klisa<sup>3</sup>**

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

<sup>2</sup>Grodno Regional Clinical Hospital, Grodno, Republic of Belarus

<sup>3</sup>Yanka Kupala State University of Grodno, Grodno, Republic of Belarus

## **DYNAMICS OF ESSENTIAL AMINO ACIDS PLASMA LEVELS IN PATIENTS WITH SEPSIS TREATED BY THE EXTRACORPOREAL BLOOD PURIFICATION METHODS**

**Abstract.** Extracorporeal blood purification (EBP) is one of the trends of effective sepsis therapy. Some disadvantages of this method such as a possible reduction of plasma levels of different important metabolites are described. It is known that sepsis disorders of amino acid metabolism are manifested in microcirculation interruptions, the decreased immune response and the increased mortality.

The aim of the study is to investigate the EBP effect on the essential amino acid plasma levels in patients diagnosed with sepsis.

We selected 38 patients diagnosed with sepsis. Standard treatment protocols of plasma filtration, hemofiltration, and hemadsorption with various sorbents were used. We revealed a significant decrease in the levels of valine, methionine, tryptophan, isoleucine, phenylalanine, leucine, and lysine in patients who underwent hemadsorption by the sorbent “Proteasosorb”. Hemadsorption by the sorbent “Proteasosorb” has the greatest effect on the levels of amino acids.

**Keywords:** essential amino acids, sepsis, hemadsorption, hemofiltration, plasma filtration

**For citation:** Yakubtsevich R. E., Belyavsky N. V., Glazev A. A., Klisa S. D. Dynamics of essential amino acids plasma levels in patients with sepsis treated by the extracorporeal blood purification methods. *Vesti Natsyyanal'най akademii navuk Belarusi. Seriya meditsinskikh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2020, vol. 17, no. 1, pp. 64–69 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2020-17-1-64-69>

**Введение.** Сепсис – одна из наиболее распространенных причин смерти пациентов в отделениях интенсивной терапии [1]. Лечение данного состояния требует комплексного подхода. Одним из направлений эффективной терапии сепсиса является применение методов экстракорпорального очищения крови (ЭОК) [2]. Однако данный вид лечения имеет свои достоинства и недостатки.

Преимуществом использования методов ЭОК является эффективное удаление цитокинов, бактериальных токсинов, что выражается в конечном уменьшении летальности пациентов с сепсисом и сопутствующим ему синдромом полиорганной недостаточности. Среди недостатков методов ЭОК следует отметить снижение плазменной концентрации антибактериальных препаратов и альбумина, уменьшение числа тромбоцитов, риск развития катетер-ассоциированных инфекций, повышенный риск кровотечения, а также нарушения водно-электролитного обмена, что может оказаться критичным для пациентов с сепсисом [3].

Аминокислоты являются одним из важнейших нутриентов, обеспечивающих адекватность пластических процессов в организме и эффективность поддержания гомеостаза. Сепсис характеризуется значительными нарушениями метаболизма, среди которых увеличение энергетических затрат в покое, повышение катаболизма белков, жиров и отрицательный азотистый баланс. Это неизбежно приводит к значительному изменению концентраций аминокислот в плазме [4, 5]. Возникающие в результате подобной длительной декомпенсации разобщенных метаболических процессов распад мышечной ткани и неэффективный иммунный ответ могут отсрочить выздоровление и увеличить летальность [6].

Помимо участия в метаболических процессах, аминокислоты играют важную роль и в других патогенетических механизмах сепсиса. К примеру, фенилаланин, лейцин, изолейцин, глутаминовая кислота, аланин, метионин, аспарагиновая кислота, глутамин, тирозин в физиологических и супрафизиологических концентрациях снижают выработку кинуреновой кислоты [7], повышение уровня которой у пациентов с сепсисом приводит к гипофункции глутамат-, допамин- и холинергической нейромедиаторных систем, в результате чего нарастает тяжесть состояния пациентов и снижается их выживаемость [8, 9]. Поддержание физиологических концентраций в плазме аргинина и цитруллина обеспечивает необходимую продукцию оксида азота (NO), что играет существенную роль в сохранении адекватной тканевой микроциркуляции и обеспечивает эффективный иммунный ответ [10].

Учитывая такую вариабельность концентраций аминокислот на фоне течения сепсиса, представляется важным подробнее изучить влияние методов ЭОК на аминокислотный обмен, в частности на изменение уровней незаменимых аминокислот в плазме крови у пациентов с диагностированным сепсисом.

Цель исследования – изучить влияние интенсивной терапии методами экстракорпорального очищения крови на динамику уровней незаменимых аминокислот в плазме крови у пациентов с сепсисом различной этиологии.

**Материалы и методы исследования.** Для анализа было отобрано 38 пациентов с диагнозом «сепсис» различной степени тяжести и этиологии (абдоминальный, панкреатогенный, урологический и др.). Диагноз выставлялся согласно общепринятым критериям [11–13], а также с учетом дополнительных маркеров сепсиса: С-реактивного белка, прокальцитонина (более 2 нг/мл), пресепсина (более 800 пг/мл). Содержание маркеров в крови определяли по общепринятым методикам. Было сформировано 5 групп пациентов согласно применяемым методам ЭОК: группа «ГС-ПС» ( $n = 8$ ), в которой применяли стандартный протокол гемосорбции сорбентом «Протеазосорб»; группа «ГС-ЛПС» ( $n = 8$ ), в которой использовали стандартный протокол гемосорбции со специфическим сорбентом для липополисахаридов; группа «ПФ» ( $n = 7$ ), где применяли стандартный протокол плазмофильтрации; группа «УС» ( $n = 8$ ), где использовали стандартный протокол гемосорбции с угольным сорбентом, и группа «ГФ» ( $n = 7$ ), где применяли стандартный протокол продленной вено-венозной гемофильтрации. Пациенты всех групп были сопоставимы по полу, возрасту, степени тяжести, оцениваемой в баллах по шкалам APACHE II и SOFA, а различия между ними заключались лишь в виде применяемых к ним процедур экстракорпоральной детоксикации. Исследовали уровни следующих аминокислот: треонина, аргинина, валина, метионина, триптофана, изолейцина, фенилаланина, лейцина, лизина. Забор крови для исследования уровней аминокислот производили дважды: до проведения процедуры ЭОК и непосредственно по ее окончании. Для измерения уровней аминокислот в плазме крови применяли метод высокоэффективной жидкостной хроматографии, используя аппарат Agilent 1100. Статистический анализ полученных данных осуществляли при помощи

программного пакета STATISTICA 10. Поскольку в данных группах распределение признаков было отличным от нормального, величины выражали в виде медиан (Me) и интерквартильных размахов (значения 25-го и 75-го перцентилей). При сравнении зависимых групп с распределением значений, отличным от нормального, использовали непараметрический метод – критерий Уилкоксона.

**Результаты и их обсуждение.** Анализ полученных в группе «ГС-ПС» данных показал следующие результаты (см. таблицу): достоверное ( $p < 0,05$ ) снижение уровней валина – на 30 %, метионина – на 19, триптофана – на 29, изолейцина – на 19, фенилаланина – на 15, лейцина – на 28, лизина – на 14 %. В группе «ГС-ЛПС» не удалось получить достоверных результатов. В группах «ПФ» и «УС» достоверные значения также не были определены. Тенденция к снижению отмечалась лишь у лизина (на 18 %) при использовании гемокарбоперфузии. В группе «ГФ» достоверных результатов не получено. Тенденция к снижению наблюдалась у аминокислоты лизин (на 16 %). Возможным объяснением уменьшения уровней аминокислот в плазме в группе «ГС-ПС» может являться поглощение сорбентом протеолитических ферментов (трипсина, химотрипсина, катепсина D, панкреатической и нейтрофильной эластазы) [14] с дальнейшим снижением степени гидролиза тканевых белков и соответствующим понижением образования свободных аминокислот. Известно, что пептидные соединения, образуемые триптофаном и фенилаланином, – приоритетные цели для действия химотрипсина. Сюда же можно отнести связи, образуемые метионином и лейцином, но активность ферментативного гидролиза по отношению к ним ниже [15]. Для трипсина основной точкой приложения являются связи, образованные лизином [16]. Пептиды, образуемые валином, – основная мишень для эластаз [17]. Таким образом, сорбент «Протеазосорб» эффективно поглощает указанные ферменты из плазмы крови, уменьшая степень их активности. Вследствие этого логично предположить, что гидролиз пептидов, содержащих соответствующие аминокислоты, замедляется, что и могло вызвать снижение их концентрации в плазме. Однако это не объясняет, почему в таком случае наблюдается отсутствие достоверного снижения концентрации аргинина, который тоже является субстратом для трипсина.

**Динамика уровней незаменимых аминокислот в плазме крови пациентов с сепсисом на фоне проведения интенсивной терапии различными методами ЭОК, мкмоль/л (Me 25 %–75 %)**

**Dynamics of essential amino acids plasma levels in patients with sepsis treated by extracorporeal blood purification methods, mkmol/l (Me 25 %–75 %)**

Аминокислота	Этап исследования	ГС-ПС	ГС-ЛПС	ПФ	УС	ГФ
Thr	До ЭОК	114,8 (94,21; 198,91)	120,47 (70,78; 190,61)	54,34 (45,43; 84,38)	114,88 (96,99; 127,35)	149,56 (135,49; 187,24)
	После ЭОК	100,69 (86,3; 179,78)	110,09 (76,71; 124,41)	59,88 (47,72; 77,64)	109,71 (96,67; 164,19)	126,46 (112,83; 133,41)
	<i>p</i>	0,07	0,28	0,7	0,89	0,24
Arg	До ЭОК	69,85 (57,87; 89,45)	68,01 (45,74; 200,39)	36,94 (30,97; 47,15)	76,88 (71,86; 129,42)	54,25 (43,16; 126,90)
	После ЭОК	70,01 (52,46; 78,50)	65,42 (55,88; 66,98)	36,22 (28,60; 47,34)	100,55 (86,56; 111,68)	59,15 (40,44; 66,30)
	<i>p</i>	0,2	0,59	0,71	0,89	0,75
Val	До ЭОК	314,85 (204,32; 380,74)	188,85 (181,26; 362,03)	173,24 (145,81; 242,92)	266,42 (246,77; 279,13)	268,12 (230,03; 373,79)
	После ЭОК	215,34* (187,93; 332,46)	195,8 (178,53; 230,98)	185,45 (137,44; 249,88)	268,15 (212,05; 281,66)	238,92 (189,33; 277,87)
	<i>p</i>	0,01	0,59	0,71	0,89	0,17
Met	До ЭОК	28,16 (24,44; 37,78)	30,62 (16,63; 34,49)	17,05 (12,29; 17,70)	27,37 (27,14; 28,27)	33,64 (26,47; 35,55)
	После ЭОК	22,86* (17,41; 28,43)	22,60 (20,28; 25,13)	14,83 (10,35; 19,30)	26,20 (24,71; 29,93)	28,86 (18,49; 39,99)
	<i>p</i>	0,02	0,28	0,71	0,68	0,24

Окончание таблицы

Аминокислота	Этап исследования	ГС-ПС	ГС-ЛПС	ПФ	УС	ГФ
Тгр	До ЭОК	31,16 (16,04; 36,53)	36,46 (27,50; 48,12)	19,75 (17,06; 21,38)	22,32 (22,05; 22,98)	26,96 (12,37; 39,65)
	После ЭОК	22,04* (10,38; 34,29)	29,22 (25,08; 29,32)	23,32 (20,01; 26,49)	20,38 (20,13; 24,62)	29,79 (17,83; 33,54)
	<i>p</i>	0,03	0,1	0,144	0,34	0,91
Ile	До ЭОК	88,62 (73,88; 126,85)	63,97 (50,57; 100,96)	39,77 (21,31; 68,08)	78,64 (74,29; 78,76)	72,18 (46,12; 126,51)
	После ЭОК	71,33* (54,83; 92,32)	59,13 (54,60; 63,34)	42,18 (17,61; 65,74)	74,06 (70,07; 83,46)	67,63 (39,64; 92,19)
	<i>p</i>	0,006	0,28	0,46	0,89	0,46
Phe	До ЭОК	73,91 (53,47; 90,20)	68,31 (54,70; 157,42)	53,04 (47,62; 74,53)	62,66 (56,19; 63,02)	127,65 (107,96; 135,14)
	После ЭОК	62,42* (44,81; 74,33)	63,86 (56,46; 80,21)	55,19 (49,37; 71,04)	58,75 (54,00; 62,41)	109,32 (68,35; 124,31)
	<i>p</i>	0,01	0,28	1	0,5	0,24
Leu	До ЭОК	198,22 (120,45; 243,37)	140,70 (114,96; 241,50)	117,36 (85,88; 150,96)	164,21 (161,17; 171,23)	148,54 (114,72; 230,28)
	После ЭОК	143,06* (95,89; 183,99)	135,63 (130,49; 141,6)	121,65 (73,08; 157,97)	162,62 (137,48; 167,99)	132,07 (110,63; 194,85)
	<i>p</i>	0,007	0,59	0,71	0,68	0,34
Lys	До ЭОК	123,51 (100,12; 177,69)	89,85 (65,79; 118,40)	119,60 (50,94; 184,22)	124,29 (91,35; 128,83)	104,28 (101,61; 158,70)
	После ЭОК	106,64* (63,22; 140,81)	72,02 (60,36; 79,61)	104,07 (53,05; 133,49)	101,99 (99,87; 103,85)	86,98 (70,82; 104,66)
	<i>p</i>	0,03	0,1	0,28	0,07	0,07

Примечание. \* – достоверность отличия показателя по сравнению с исходным в группе (критерий Вилкоксона). Thr – треонин, Arg – аргинин, Val – валин, Met – метионин, Trp – триптофан, Ile – изолейцин, Phe – фенилаланин, Leu – лейцин, Lys – лизин.

Снижение общей активности протеолитических ферментов после гемосорбции должно отражаться и на скорости деградации таких интерстициальных белков, как богатые пролином и лизином коллаген и эластин, чем также можно объяснить снижение концентрации этих аминокислот в плазме крови [18].

Наиболее вероятной причиной наметившейся тенденции к снижению уровней аминокислот в плазме крови для групп «ПФ» и «ГФ» могла быть потеря аминокислот через полупроницаемую мембрану [19], однако в этом случае необъясним тот факт, что достоверного снижения концентрации всех аминокислот не наблюдается.

**Заключение.** Согласно полученным данным, наибольшее влияние ЭОК на уровни незаменимых аминокислот в плазме крови выявлено в группе «ГС-ПС», что достоверно продемонстрировано на примере 7 незаменимых аминокислот. Однако данный факт не следует расценивать как негативный, поскольку он может быть следствием уменьшения степени сепсис-индуцированной деструкции тканей и последующего снижения высвобождения аминокислот, что является дополнительным свидетельством эффективности методики гемосорбции с использованием сорбента «Протеазосорб» у пациентов с сепсисом.

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

#### Список использованных источников

1. Lee, J. M. Clinical year in review 2014: critical care medicine / J. M. Lee, H. B. Lee // Tuberc. Respir. Dis. – 2014. – Vol. 77, N 1. – P. 6–12. <https://doi.org/10.4046/trd.2014.77.1.6>
2. Rimmelé, T. Clinical review: blood purification for sepsis / T. Rimmelé, J. A. Kellum // Crit. Care. – 2011. – Vol. 15, N 1. – Art. 205. <https://doi.org/10.1186/cc9411>

3. Extracorporeal techniques for the treatment of critically ill patients with sepsis beyond conventional blood purification therapy: the promises and the pitfalls / G. Ankawi [et al.] // *Crit. Care*. – 2018. – Vol. 22, N 1. – Art. 262. <https://doi.org/10.1186/s13054-018-2181-z>
4. Michie, H. R. Metabolism of sepsis and multiple organ failure / H. R. Michie // *World J. Surg.* – 1996. – Vol. 20, N 4. – P. 460–464. <https://doi.org/10.1007/s002689900072>
5. Druml, W. Amino acid kinetics in patients with sepsis / W. Druml, G. Heinzl, G. Kleinberger // *Am. J. Clin. Nutrition*. – 2001. – Vol. 73, N 5. – P. 908–913. <https://doi.org/10.1093/ajcn/73.5.908>
6. Metabolic response to injury and sepsis: changes in protein metabolism / G. Biolo [et al.] // *Nutrition*. – 1997. – Vol. 13, N 9. – P. 525–575. [https://doi.org/10.1016/s0899-9007\(97\)83044-4](https://doi.org/10.1016/s0899-9007(97)83044-4)
7. Amino acids inhibit kynurenic acid formation via suppression of kynurenine uptake or kynurenic acid synthesis in rat brain *in vitro* / A. Sekine [et al.] // *SpringerPlus*. – 2015. – Vol. 4, N 1. – P. 48. <https://doi.org/10.1186/s40064-015-0826-9>
8. Early activation of the kynurenine pathway predicts early death and long-term outcome in patients resuscitated from out-of-hospital cardiac arrest / G. Ristagno [et al.] // *J. Am. Heart Assoc.* – 2014. – Vol. 3, N 4. – P. 1094. <https://doi.org/10.1161/JAHA.114.001094>
9. New prospects for antipsychotic treatment – the role of the kynurenine pathway / H. Karakuła-Juchnowicz [et al.] // *Psychiatr Pol.* – 2014. – Vol. 48, N 6. – P. 1167–1177. <https://doi.org/10.12740/pp/25520>
10. Arginine and citrulline and the immune response in sepsis / K. A. Wijnands [et al.] // *Nutrients*. – 2015. – Vol. 7, N 3. – P. 1426–1463. <https://doi.org/10.3390/nu7031426>
11. Surviving sepsis campaign: international guidelines for management of severe sepsis and septic shock / R. P. Dellinger [et al.] // *Crit. Care Med.* – 2013. – Vol. 41, N 2. – P. 580–637. <https://doi.org/10.1097/CCM.0b013e31827e83af>
12. Definition for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis / R. C. Bone [et al.] // *Chest*. – 1992. – Vol. 101, N 6. – P. 1644–1655. <https://doi.org/10.1378/chest.101.6.1644>
13. 2001 SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS International sepsis definitions conference / M. M. Levy [et al.] // *Crit. Care Med.* – 2003. – Vol. 31, N 4. – P. 1250–1256. <https://doi.org/10.1097/01.ccm.0000050454.01978.3b>
14. Биоспецифические гемосорбенты. Успехи и проблемы / В. В. Кирковский [и др.] // *Неотложная мед. помощь. Журн. им. Н. В. Склифосовского*. – 2016. – № 2. – С. 16–19.
15. Chymotrypsin: molecular and catalytic properties / W. Appel [et al.] // *Clin. Biochem.* – 1986. – Vol. 19, N 6. – P. 317–322. [https://doi.org/10.1016/s0009-9120\(86\)80002-9](https://doi.org/10.1016/s0009-9120(86)80002-9)
16. Rawlings, N. D. Families of serine peptidases / N. D. Rawlings, A. J. Barrett // *Methods Enzymol.* – 1994. – N 244. – P. 19–61. [https://doi.org/10.1016/0076-6879\(94\)44004-2](https://doi.org/10.1016/0076-6879(94)44004-2)
17. Bieth, J. G. Les élastases / J. G. Bieth // *J. Soc. Biol.* – 2001. – Vol. 195, N 2. – P. 173–179. <https://doi.org/10.1051/jbio/2001195020173>
18. Биохимия : учеб. для вузов / под ред. Е. С. Северина. – М. : ГЭОТАР-медиа, 2003. – 779 с.
19. Amino acid loss and nitrogen balance in critically ill children with acute renal failure: a prospective comparison between classic hemofiltration and hemofiltration with dialysis / N. J. Maxvold [et al.] // *Crit. Care Med.* – 2000. – Vol. 28, N 4. – P. 1161–1165. <https://doi.org/10.1097/00003246-200004000-00041>

## References

1. Lee J. M., Lee H. B. Clinical year in review 2014: critical care medicine. *Tuberculosis and Respiratory Diseases*, 2014, vol. 77, no. 1, pp. 6–12. <https://doi.org/10.4046/trd.2014.77.1.6>
2. Rimmelé T., Kellum J. A. Clinical review: blood purification for sepsis. *Critical Care*, 2011, vol. 15, no. 1, art. 205. <https://doi.org/10.1186/cc9411>
3. Ankawi G., Neri M., Zhang J., Breglia A., Ricci Z., Ronco C. Extracorporeal techniques for the treatment of critically ill patients with sepsis beyond conventional blood purification therapy: the promises and the pitfalls. *Critical Care*, 2018, vol. 22, no. 1, art. 262. <https://doi.org/10.1186/s13054-018-2181-z>
4. Michie H. R. Metabolism of sepsis and multiple organ failure. *World Journal of Surgery*, 1996, vol. 20, no. 4, pp. 460–464. <https://doi.org/10.1007/s002689900072>
5. Druml W., Heinzl G., Kleinberger G. Amino acid kinetics in patients with sepsis. *American Journal of Clinical Nutrition*, 2001, vol. 73, no. 5, pp. 908–913. <https://doi.org/10.1093/ajcn/73.5.908>
6. Biolo G., Toigo G., Ciochi B., Situlin R., Iscra F., Gullo A., Guarnieri G. Metabolic response to injury and sepsis: changes in protein metabolism. *Nutrition*, 1997, vol. 13, no. 9, pp. 525–575. [https://doi.org/10.1016/s0899-9007\(97\)83044-4](https://doi.org/10.1016/s0899-9007(97)83044-4)
7. Sekine A., Okamoto M., Kanatani Y., Sano M., Shibata K., Fukuwatari T. Amino acids inhibit kynurenic acid formation via suppression of kynurenine uptake or kynurenic acid synthesis in rat brain *in vitro*. *SpringerPlus*, 2015, vol. 4, p. 48. <https://doi.org/10.1186/s40064-015-0826-9>
8. Ristagno G., Latini R., Vaahersalo J., Masson S., Kurola J., Varpula T. [et al.]. Early activation of the kynurenine pathway predicts early death and long-term outcome in patients resuscitated from out-of-hospital cardiac arrest. *Journal of the American Heart Association*, 2014, vol. 3, no. 4. <https://doi.org/10.1161/JAHA.114.001094>
9. Karakuła-Juchnowicz H., Flis M., Szymona K., Kuczyńska M., Stelmach E., Kowal-Popczak A. New prospects for antipsychotic treatment – the role of the kynurenine pathway. *Psychiatria Polska*, 2014, vol. 48, no. 6, pp. 1167–1177. <https://doi.org/10.12740/pp/25520>
10. Wijnands K. A., Castermans T. M., Hommen M. P., Meesters D. M., Poeze M. Arginine and citrulline and the immune response in sepsis. *Nutrients*, 2015, vol. 7, no. 3, pp. 1426–1463. <https://doi.org/10.3390/nu7031426>

11. Dellinger R. P., Levy M. M., Rhodes A., Annane D., Gerlach H., Opal S. M. [et al.]. Surviving Sepsis Campaign Guidelines Committee including the Pediatric Subgroup. Surviving sepsis campaign: international guidelines for management of severe sepsis and septic shock: 2012. *Critical Care Medicine*, 2013, vol. 41, no. 2, pp. 580–637. <https://doi.org/10.1097/CCM.0b013e31827e83af>
12. Bone R. C., Balk R. A., Cerra F. B., Dellinger R. P., Fein A. M., Knaus W. A., Schein R. M., Sibbald W. J. Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. *Chest*, 1992, vol. 101, no. 6, pp. 1644–1655. <https://doi.org/10.1378/chest.101.6.1644>
13. Levy M. M., Fink M. P., Marshall J. C., Abraham E., Angus D., Cook D., Cohen J., Opal S. M., Vincent J. L., Ramsay G. SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS. 2001 SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS International sepsis definitions conference. *Critical Care Medicine*, 2003, vol. 31, no. 4, pp. 1250–1256. <https://doi.org/10.1097/01.ccm.0000050454.01978.3b>
14. Kirkovskii V. V., Kolesnikova I. G., Lobacheva G. A., Sedelkina E. L. Biospecific sorbents: successes and problems. *Neotlozhnaya meditsinskaya pomoshch'.* *Zhurnal im. N. V. Sklifosovskogo* [Emergency medical care. Journal named after N. V. Sklifosovsky], 2016, no. 2, pp. 16–19 (in Russian).
15. Appel W. Chymotrypsin: molecular and catalytic properties. *Clinical Biochemistry*, 1986, vol. 19, no. 6, pp. 317–322. [https://doi.org/10.1016/s0009-9120\(86\)80002-9](https://doi.org/10.1016/s0009-9120(86)80002-9)
16. Rawlings N. D., Barrett A. J. Families of serine peptidases. *Methods in Enzymology*, 1994, vol. 244, pp. 19–61. [https://doi.org/10.1016/0076-6879\(94\)44004-2](https://doi.org/10.1016/0076-6879(94)44004-2)
17. Bieth J. G. Les élastases. *Journal de la Société de Biologie*, 2001, vol. 195, no. 2, pp. 173–179. <https://doi.org/10.1051/jbio/2001195020173>
18. Severin E. S. (ed.). *Biochemistry*. Moscow, GEOTAR-media Publ., 2003. 779 p. (in Russian).
19. Maxvold N. J., Smoyer W. E., Custer J. R., Bunchman T. E. Amino acid loss and nitrogen balance in critically ill children with acute renal failure: a prospective comparison between classic hemofiltration and hemofiltration with dialysis. *Critical Care Medicine*, 2000, vol. 28, no. 4, pp. 1161–1165. <https://doi.org/10.1097/00003246-200004000-00041>

### Информация об авторах

*Якубцевич Руслан Эдуардович* – д-р мед. наук, доцент, заведующий кафедрой. Гродненский государственный медицинский университет (ул. Горького, 80, 230015, г. Гродно, Республика Беларусь). E-mail: [jackruslan@tut.by](mailto:jackruslan@tut.by), <https://orcid.org/0000-0002-8699-8216>

*Белявский Николай Викторович* – врач анестезиолог-реаниматолог. Гродненская областная клиническая больница (г. Гродно, Бульвар Ленинского комсомола, 52, 230015, г. Гродно, Республика Беларусь). E-mail: [neurogames@gmail.com](mailto:neurogames@gmail.com), <https://orcid.org/0000-0003-0452-8876>

*Глазев Антон Анатольевич* – канд. биол. наук, зам. проректора по научной работе. Гродненский государственный университет им. Янки Купалы (ул. Ожешко, 22, 230023, г. Гродно, Республика Беларусь). E-mail: [anton.glazev@rambler.ru](mailto:anton.glazev@rambler.ru)

*Клиса Сергей Дмитриевич* – мл. науч. сотрудник. Гродненский государственный университет им. Янки Купалы (ул. Ожешко, 22, 230023, г. Гродно, Республика Беларусь). E-mail: [siarogyk@mail.ru](mailto:siarogyk@mail.ru)

### Information about the authors

*Ruslan E. Yakubtsevich* – D. Sc. (Med.), Assistant Professor, Head of the Department. Grodno State Medical University (80, Gorky Str., 230015, Grodno, Republic of Belarus). E-mail: [jackruslan@tut.by](mailto:jackruslan@tut.by), <https://orcid.org/0000-0002-8699-8216>

*Nickolay V. Belyavsky* – anesthesiologist-reanimatologist. Grodno Regional Clinical Hospital (Leninsky Komсомol Boulevard, 52, 230015, Grodno, Republic of Belarus). E-mail: [neurogames@gmail.com](mailto:neurogames@gmail.com), <https://orcid.org/0000-0003-0452-8876>

*Anton A. Glazev* – Ph. D. (Biol.), Deputy Vice-Rector for Research. Yanka Kupala State University of Grodno (22, Ozheshko Str., 230023, Grodno, Republic of Belarus). E-mail: [anton.glazev@rambler.ru](mailto:anton.glazev@rambler.ru)

*Sergey D. Klisa* – Junior researcher. Yanka Kupala State University of Grodno (22, Ozheshko Str., 230023, Grodno, Republic of Belarus). E-mail: [siarogyk@mail.ru](mailto:siarogyk@mail.ru)

ISSN 1814-6023 (Print)

ISSN 2524-2350 (Online)

УДК 618.5-06:618.36-008:616.391:577.161.2

<https://doi.org/10.29235/1814-6023-2020-17-1-70-77>

Поступила в редакцию 03.09.2019

Received 03.09.2019

**Г. С. Манасова, Н. В. Диденкул, Н. В. Шаповал, Н. В. Кузмин, К. В. Короткая**

*Одесский национальный медицинский университет, Одесса, Украина*

## **ОСОБЕННОСТИ ТАКТИКИ РОДОРАЗРЕШЕНИЯ У БЕРЕМЕННЫХ С ПЛАЦЕНТАРНОЙ ДИСФУНКЦИЕЙ С УЧЕТОМ КОНЦЕНТРАЦИИ ВИТАМИНА D**

**Аннотация.** Широкая распространенность витамин D (VD) дефицитного состояния (VDDS) среди взрослого населения, а также данные об известных плейотропных эффектах кальцитриола свидетельствуют об участии последнего в развитии различных осложнений и исходов беременности.

Цель работы – анализ течения беременности и тактики родоразрешения беременных с плацентарной дисфункцией (ПД) в зависимости от обеспеченности организма кальцитриолом.

Обследовано 56 пациенток с ПД (группа I – основная) и 40 условно здоровых женщин с физиологическим течением беременности (группа II – контрольная).

В дополнение к стандартному клинико-лабораторному обследованию определяли уровень витамина D в крови методом иммуноферментного анализа. Для проведения статистического анализа использовали программное обеспечение Biostat, Statistica 6.0.

Установлено, что у 76,8 % женщин из группы I содержание VD соответствовало дефицитному (38,4 %) и субоптимальному статусу (38,4 %) (RR = 3,0; 95 % CI 2,39–3,76). В группе II VDDS не выявлено, а субоптимальный статус диагностирован у 31,45 % беременных. Средний уровень VD в группе I был достоверно ниже, чем в группе II ( $31,4 \pm 8,6$  нг/мл vs  $43,54 \pm 11,2$  нг/мл;  $U_{эмп} = 42,5$ ;  $p < 0,05$ ).

Частота кесарева сечения в группе I превысила соответствующий показатель в группе II в 3,4 раза (42,85 % vs 12,5 %;  $F = 0,00001$ ;  $p < 0,01$ ). Вес новорожденных в группе II достоверно превышал вес детей в группе I ( $3643,24 \pm 136$  г vs  $3299,11 \pm 128$  г;  $t = 4,17$ ;  $p < 0,01$ ); выявлена сильная прямая зависимость между весом новорожденных и уровнем VD в крови беременных ( $r = 0,71$ ). Установлено, что VDDS увеличивает риск абдоминального родоразрешения в 2 раза (RR = 1,27; 95 % CI 0,95–1,66).

Таким образом, VD-статус беременной может оказывать определенное влияние на формирование оптимальных адаптационно-компенсаторных механизмов в маточно-плацентарно-плодовой системе и на исход беременности для матери и плода.

**Ключевые слова:** беременность, витамин D, плацентарная дисфункция, кесарево сечение

**Для цитирования:** Особенности тактики родоразрешения у беременных с плацентарной дисфункцией с учетом концентрации витамина D / Г. С. Манасова [и др.] // Вес. Нац. акад. наук Беларуси. Сер. мед. наук. – 2020. – Т. 17, № 1. – С. 70–77. <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2020-17-1-70-77>

**Gulsym S. Manasova, Natalia V. Didenkul, Nikolay V. Shapoval, Natalia V. Kuzmin, Ksenya V. Korotkaya**

*Odessa National Medical University, Odessa, Ukraine*

## **FEATURES OF DELIVERY TACTICS IN PREGNANT WOMEN WITH PLACENTAL DYSFUNCTION AND TAKING INTO ACCOUNT THE CONCENTRATION OF VITAMIN D**

**Abstract.** The high prevalence of the vitamin D (VD) deficiency states (VDDS) among adults, as well as the data on the pleiotropic effects of calcitriol suggests its participation in the development of various complications and pregnancy outcomes.

The objective of the present study is to analyze the pregnancy course and delivery tactics of pregnant women with placental dysfunction (PD) depending on the calcitriol availability.

We examined 56 patients with PD (I – main group) and 40 conditionally healthy women with physiological pregnancy (II – control group).

In addition to the standard clinical and laboratory examination, the level of vitamin D in the blood was determined by ELISA. The statistical analysis used the software Biostat, Statistica 6.0.

In 76.8 % of group I women, the VD content corresponded to the deficit (38.4 %) and to the suboptimal status (38.4 %), (RR = 3.0; 95 % CI 2.39–3.76). In group II, VDDS was not detected and the suboptimal status was diagnosed in 31.45 %. The average VD level in group I was significantly lower than that in group II ( $31.4 \pm 8.6$  ng/ml vs  $43.54 \pm 11.2$  ng/ml;  $U_{emp} = 42.5$ ;  $p < 0.05$ ).

The caesarean section rate in group I was 3.4 times higher than that in group II (42.85 % vs 12.5 %;  $F = 0.00001$ ;  $p < 0.01$ ). The weight of newborns in group II significantly exceeded the weight of children in group I ( $3643.24 \pm 136$  g vs

3299.11 ± 128 g;  $t = 4.17$ ;  $p < 0.01$ ); a strong direct correlation was found between the weight of the newborn and the VD level in the blood of pregnant women ( $r = 0.71$ ). VDDS increases 2 times the risk of abdominal delivery (RR = 1.27; 95 % CI 0.95–1.66).

The VD status of a pregnant woman can have a certain influence on the formation of optimal adaptive-compensatory mechanisms in the utero-placental-fetal system and on the pregnancy outcome for mother and fetus.

**Keywords:** pregnancy, vitamin D, placental dysfunction, cesarean section

**For citation:** Manasova G. S., Didenkul N. V., Shapoval N. V., Kuzmin N. V., Korotkaya K. V. Features of delivery tactics in pregnant women with placental dysfunction and taking into account the concentration of vitamin D. *Vesti Natsyyanal'nai akademii nauk Belarusi. Seriya meditsinskikh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2020, vol. 17, no. 1, pp. 70–77 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2020-17-1-70-77>

**Введение.** Активное изучение плейотропных внескелетных эффектов кальцитриола в последние годы показало, что недостаток последнего является причиной нарушения многих физиологических процессов. Витамин D дефицитное состояние (vitamin D deficiency state – VDDS) является распространенным явлением для большинства стран мира [1, 2]. По данным В. В. Поворознюка [3], у 81,8 % взрослого населения Украины имеется дефицит витамина D, а у 13,6 % его количество в организме является недостаточным. Только у 4,6 % украинцев уровень витамина D в пределах нормы.

Во время беременности и лактации частота недостаточности и дефицита VD выявляется более чем у 30–55 % женщин и ассоциируется с различными осложнениями беременности [4, 5].

Известно, что система VD/VDR контролирует более 2000 генов, в том числе в тканях и органах репродуктивной системы: молочной железе, эндометрии, миометрии, ткани яичников, трофобласте, плаценте, эндотелии сосудов и др. Так, VD принимает участие в регуляции овуляции, обеспечивает взаимодействие эмбриона и эндометрия в период имплантации, обладает дозозависимым влиянием на инвазию трофобласта, а также на ангиогенез и плацентогенез [6, 7].

В последние годы активно дискутируется вопрос об увеличении частоты родоразрешений оперативным путем [8]. Так, частота кесарева сечения в странах Европы, по данным Европейского совета королевского колледжа акушеров-гинекологов (EBCOG – European Board & College of Obstetrics and Gynaecology, 2018 г.), в среднем составляет 25,2 %, но увеличение частоты кесарева сечения не связано с улучшением показателей материнской и неонатальной заболеваемости и смертности [9].

По данным ряда авторов [10–12], увеличение частоты «первичного» кесарева сечения может быть связано с VDDS.

Несмотря на дискуссионность данного вопроса [13], по мнению большинства исследователей, нормальный уровень витамина D является важным для функционирования большинства тканей и систем организма, в том числе и во время беременности и лактации [14, 15].

Цель работы – проведение анализа течения беременности и тактики родоразрешения беременных с плацентарной дисфункцией и женщин с физиологическим течением беременности в зависимости от обеспеченности организма кальцитриолом.

**Материалы и методы исследования.** После получения информированного согласия было обследовано 96 беременных, из которых 40 условно здоровых пациенток с физиологическим течением беременности в возрасте от 21 до 38 лет ( $30,35 \pm 3,12$  года) вошли в группу контроля, а 56 пациенток с плацентарной дисфункцией (ПД) на фоне перинатального инфицирования в таком же возрасте ( $29,21 \pm 4,3$  года;  $p > 0,05$ ) составили основную группу. У 39,29 % беременных из основной группы диагноз ПД был установлен во втором триместре беременности, у 60,71 % – в третьем.

Следует отметить, что Одесская область характеризуется самым высоким по Украине среднегодовым уровнем солнечной инсоляции ( $3,55$  кВт·ч/м<sup>2</sup>·сут) по сравнению с другими регионами, где соответствующий показатель достоверно ниже (например, во Львовской области –  $2,92$  кВт·ч/м<sup>2</sup>·сут, в Черновицкой области –  $2,98$  кВт·ч/м<sup>2</sup>·сут) [16]. Все беременные являлись жительницами г. Одессы, что позволяет условно предполагать оптимальные с точки зрения активности солнечной инсоляции условия для синтеза активного метаболита витамина D.

Индекс массы тела у пациенток основной группы соответствовал  $22,2 \pm 1,7$  условным единицам (у. е.), в группе контроля –  $22,8 \pm 1,93$  у. е. ( $p > 0,05$ ).

В соответствии с требованиями нормативных документов осуществлялась верификация перинатального инфицирования; были проведены общеклинические и специальные клиничко-лабораторные обследования по оценке состояния фето-плацентарного кровообращения и внутриутробного плода (ультразвуковые, доплерометрические, гормональные и другие методы).

Методом иммуноферментного анализа оценивали уровень витамина D в крови по уровню общего для холе- и эргокальциферола циркулирующего метаболита – 25(OH)D.

Все статистические анализы проводили с использованием программного обеспечения Biostat, Statistica 6.0 фирмы Install Shield Software Corporation (США).

**Результаты и их обсуждение.** Первородящими в группе пациенток с ПД были 71,43 %, в контрольной – 55,00 % ( $p < 0,05$ ), повторнородящие (вторые и третьи роды) составили 28,57 и 45,00 % в основной и контрольной группах соответственно ( $p < 0,05$ ). Большую частоту ПД при первой беременности и первых родах связывают с более низкими компенсаторно-приспособительными резервами фетоплацентарной системы при первой беременности [17].

При анализе акушерско-гинекологического анамнеза установлено, что у пациенток основной группы достоверно чаще имелись указания на гинекологические заболевания. Воспалительные заболевания придатков матки отмечались у 10,71 и 2,5 % женщин из основной и контрольной групп ( $p < 0,001$ ); на наличие догравидарной гипоплазии матки, синдрома склеро-поликистозных яичников, синдрома Ашермана указали 3,57 % женщин из основной группы ( $p < 0,001$ ). В группе контроля данной патологии не было.

У 10,71 % пациенток основной группы имелась миома матки ( $F = 0,002$ ;  $p < 0,05$ ;  $\chi^2 = 4,57$ ), у 26,79 и 5,00 % женщин основной и контрольной групп соответственно – фоновые заболевания шейки матки ( $F = 0,0003$ ;  $\chi^2 = 7,6$ ;  $p < 0,01$ ).

На невынашивание указали более четверти женщин с ПД: 28,57 и 2,50 % в основной и контрольной группах соответственно ( $F = 0,0008$ ;  $\chi^2 = 10,88$ ;  $p < 0,01$ ). Пациентки с рубцами на матке после предыдущего кесарева сечения были в обеих группах: в основной – 14,29 %, в контрольной – 12,5 % ( $p > 0,05$ ).

Кроме того, анамнез был отягощен бесплодием различного генеза у 21,43 и у 10 % пациенток основной и контрольной групп соответственно ( $F = 0,049$ ;  $p < 0,05$ ;  $\chi^2 = 2,19$ ); у 17,86 % женщин из основной группы беременность наступила с помощью вспомогательных репродуктивных технологий.

Течение беременности осложнилось угрозой прерывания беременности и угрозы родов до срока у 3/4 пациенток из основной группы (75,01 %), в группе контроля этот синдром был отмечен лишь у 10 % женщин ( $F = 0,00001$ ;  $p < 0,05$ ). По поводу раннего гестоза различной степени тяжести проведено лечение 28,57 и 15 % женщин основной и контрольной групп соответственно ( $F = 0,026$ ;  $p < 0,05$ ). У беременных с ПД в 5 раз чаще была диагностирована анемия 1–2-й степени (50,00 и 10,00 %;  $F = 0,00001$ ;  $p < 0,05$ ). Переболели ОРВИ во время беременности 30,36 % женщин с ПД и 7,5 % пациенток из группы контроля ( $F = 0,00004$ ;  $p < 0,05$ ). Преэклампсия была диагностирована только у 14,29 % женщин основной группы, гестационные отеки – у 10,71 и 2,5 % ( $F = 0,82$ ;  $p < 0,05$ ) беременных основной и контрольной групп.

О наличии воспалительных изменений в экстраэмбриональных образованиях свидетельствовало наличие многоводия (21,43 и 7,5 %;  $F = 0,015$ ;  $p < 0,05$ ) или маловодия (39,29 и 5,00 %;  $F = 0,00001$ ;  $p < 0,05$ ). У пациенток с ПД многоводие отмечалось в 2,8 раза чаще, а маловодие – почти в 8 раз чаще.

О наличии ПД судили по изменениям, выявленным при проведении ультразвуковых, доплерометрических и гормональных исследований. Нарушение плодово-плацентарного кровотока различной степени выявлено у 33 % беременных, синдром задержки внутриутробного развития – у 21 %. У 46 % пациенток был снижен уровень эстриола, у 30 % – уровень хорионического гонадотропина.

При сравнительной оценке витамин D статуса были получены данные, указывающие на определенную роль кальцитриола в функционировании маточно-плацентарно-плодовой системы (рис. 1).

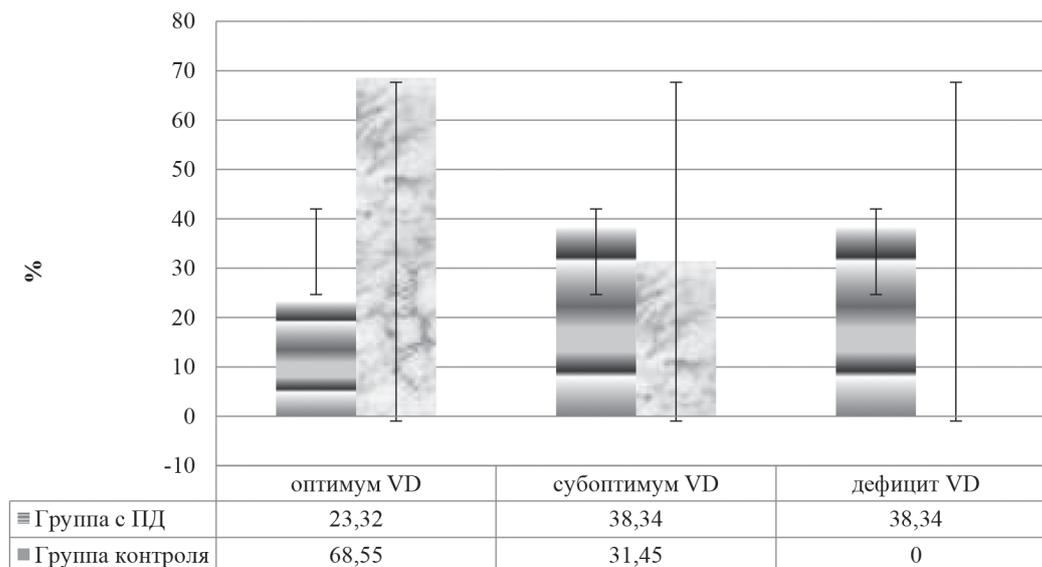


Рис. 1. Характеристика беременных с плацентарной дисфункцией и физиологическим течением беременности по витамину D статусу

Fig. 1. Characterization of pregnant women with placental dysfunction and physiological pregnancy depending on vitamin D status

Оптимальный уровень витамина D выявлен у 23,32 и 68,55 % беременных основной и контрольной групп. У 38,34 % беременных с ПД диагностирован витамин D-дефицитный статус (VD < 20 нг/мл; RR = 3,0; 95 % CI 2,39–3,76); субоптимальный статус (<30 нг/мл) определен у 38,34 %. В группе контроля беременных с уровнем VD менее 20 нг/мл не было, а субоптимальный статус был диагностирован у 31,45 %. Средний уровень витамина D при наличии ПД был достоверно ниже, чем у здоровых беременных:  $31,4 \pm 8,6$  нг/мл vs  $43,54 \pm 11,2$  нг/мл ( $U_{эмп} = 42,5$ ;  $p < 0,05$ ). В основной группе относительное число женщин с VDDS было в 2,4 раза больше: 76,68 % vs 31,45 % (RR = 1,43; 95 % CI 1,09–1,89).

По срокам родоразрешения достоверных различий в основной и контрольной группах не выявлено: все пациентки родили в сроке 37–40 недель. Что касается метода родоразрешения, частота кесарева сечения в основной группе составила 42,85 %, что в 3,4 раза превысило соответствующий показатель в контрольной группе – 12,5 % ( $F = 0,00001$ ;  $p < 0,01$ ) (рис. 2).

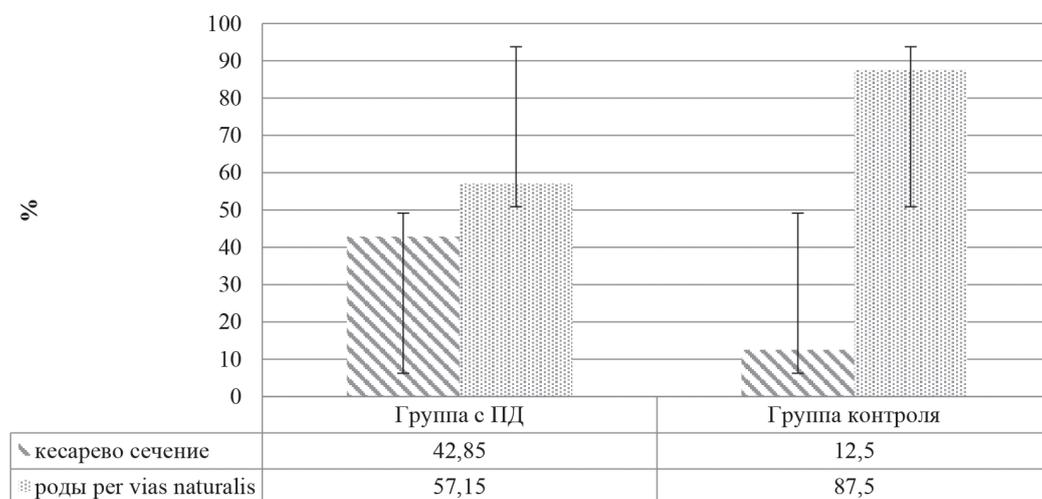


Рис. 2. Методы родоразрешения при плацентарной дисфункции и у женщин с физиологическим течением беременности

Fig. 2. Delivery methods in women with placental dysfunction and with physiological pregnancy

Необходимо отметить, что у пациенток основной группы также достоверно чаще в родах были применены различные акушерские манипуляции: вакуум-экстракция плода у 3,57 % беременных с ПД, ручное отделение и выделение последа – у 3,57 %. В контрольной группе указанные операции не производили.

Показаниями к абдоминальному родоразрешению у пациенток основной группы являлись: обструктивные роды – 46 % (аномалии родовой деятельности – 38 %, клинически узкий таз – 4, дисточия шейки матки – 4 %), дистресс плода – 28, отслойка нормально расположенной плаценты – 8, применение вспомогательных репродуктивных технологий в сочетании с требованиями женщин – 13, наличие рубца на матке после предыдущего кесарева сечения – 5 %.

В контрольной группе абдоминальный путь родоразрешения был использован всего у 12,5 % женщин, из них у 7,5 % – обструктивные роды (1 случай – аномалия родовой деятельности, 2 случая – клинически узкий таз), у 5 % – дистресс плода. Полученные данные позволяют предположить, что достоверно более высокая частота обструктивных родов в основной группе может быть связана с VDDS. Вероятно, кальцитриол, при условии его оптимального содержания

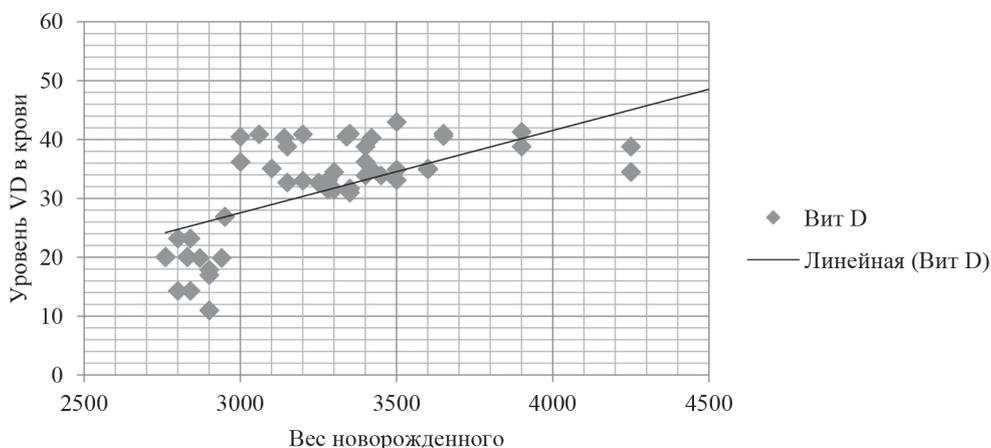


Рис. 3. Ассоциативная зависимость между уровнем витамина D в крови беременных и весом новорожденных  
Fig. 3. Associative relationship between the vitamin D level in the blood of pregnant women and the weight of newborns

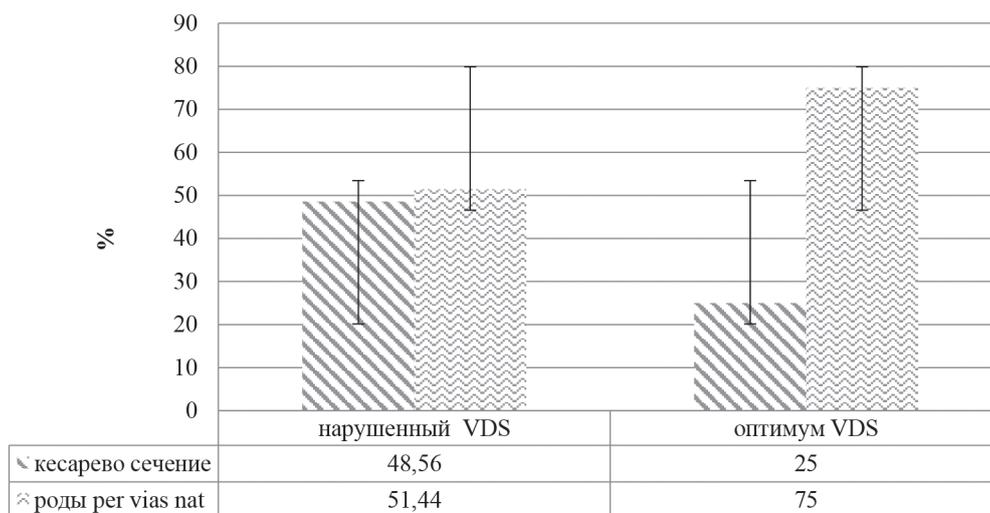


Рис. 4. Частота кесарева сечения при плацентарной дисфункции и у женщин с физиологическим течением беременности в зависимости от витамин D статуса  
Fig. 4. Frequency of cesarean section depending on the vitamin D status in women with placental dysfunction and in women with physiological pregnancy

в крови, может способствовать формированию благоприятного фона для инициации и прогрессирования родовой деятельности, что объясняется его участием в процессах ангиогенеза (маточно-плацентарное кровообращение) и в метаболизме кальция (инициация сократительной активности матки). Для подтверждения данного предположения необходимо проведение дальнейших исследований.

В оценке состояния новорожденных основной и контрольной групп по шкале Апгар наблюдались достоверные отличия (8,78 и 7,02 балла в основной и контрольной группах соответственно;  $t = 5,16; p < 0,01$ ).

Средний вес новорожденных в группе с плацентарной дисфункцией составил  $3299,11 \pm 128$  г, в группе контроля –  $3643,24 \pm 136$  г ( $t = 4,17; p < 0,01$ ); в показателях роста новорожденного также наблюдались достоверные различия ( $54,25 \pm 3,7$  см vs  $52,41 \pm 3,6$  см;  $t = 3,97; p < 0,01$ ).

Корреляционный анализ показал наличие сильной прямой зависимости (коэффициент Спирмена ( $r$ ) – 0,71) между весом новорожденного и уровнем VD в крови беременных (рис. 3).

Установлено, что при VDDS риск родоразрешения путем операции кесарева сечения имеется у каждой второй женщины (RR = 1,27; 95 % CI 0,95–1,66) (рис. 4).

Ранее было отмечено, что частота абдоминального родоразрешения увеличивается по причине обструктивных родов, что может быть обусловлено непосредственными биологическими эффектами кальцитриола, а именно его возможным участием в функционировании маточно-плацентарной системы и влиянием на сократительную активность миометрия.

**Заключение.** Сравнительный анализ течения беременности и тактики родоразрешения беременных с плацентарной дисфункцией и условно здоровых женщин с физиологическим ее течением в зависимости от обеспеченности организма кальцитриолом показал следующее:

у беременных с плацентарной дисфункцией средний уровень VD в крови достоверно ниже ( $31,73 \pm 7,26$  нг/мл), чем у условно здоровых беременных с физиологическим течением беременности ( $43,38 \pm 9,59$  нг/мл;  $U_{\text{мп}} = 42,5; p < 0,05$ );

риск родоразрешения путем операции кесарева сечения увеличивается в 2 раза при субоптимальном уровне витамина D или его дефиците, чем при оптимальном его уровне: 58,56 % vs 25 % (RR = 1,27; 95 % CI 0,95–1,66);

у новорожденных, матери которых имели субоптимальный уровень VD в крови, достоверно меньше росто-весовые показатели ( $3299,11$  и  $3643,24$  г ( $t = 4,17; p < 0,01$ )); выявлена сильная корреляционная прямая зависимость между уровнем кальцитриола в крови беременных и весом новорожденных ( $r = 0,71$ ).

Таким образом, VD статус беременной может определять условия для формирования и функционирования оптимальных адаптационно-компенсаторных механизмов в маточно-плацентарно-плодовой системе и оказывать влияние на исход беременности для матери и плода.

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

#### Список использованных источников

1. Vitamin D and its effects on cardiovascular diseases: a comprehensive review / N. Pérez-Hernández [et al.] // Korean J. Inter. Med. – 2016. – Vol. 31, N 6. – P. 1018–1029. <https://doi.org/10.3904/kjim.2015.224>
2. The nonskeletal effects of vitamin D: an endocrine society scientific statement / C. J. Rosen [et al.] // Endocr. Rev. – 2012. – Vol. 33, N 3. – P. 456–492. <https://doi.org/10.1210/er.2012-1000>
3. Рівень 25(OH) вітаміну D у дорослого населення різних регіонів України / В. В. Поворознюк [та інш.] // Проблеми остеології. – 2011. – Т. 4, № 14. – С. 3–8.
4. Faulty placentation and attitude in pregnant women with placental dysfunction: revisited of calcitriol possible role in the formation of pathology / G. S. Manasova [et al.] // Deutscher Wissenschaftsherd. German Science Gerald. – 2018. – N 4. – P. 23–28.
5. Dovnik, A. The association of vitamin D levels with common pregnancy complications [Electronic resource] / A. Dovnik, F. Mujezinović // Nutrients. – 2018. – Vol. 10, N 7. – P. 867. <https://doi.org/10.3390/nu10070867>
6. Витамин D и репродуктивное здоровье женщин / С. Ю. Калинин [и др.] // Проблемы репродукции. – 2016. – N 4. – С. 28–36.
7. Karras, S. N. Understanding vitamin D metabolism in pregnancy: from physiology to pathophysiology and clinical outcomes / S. N. Karras, C. L. Wagner, V. D. Castracane // Metabolism. – 2018. – Vol. 86. – P. 112–123. <https://doi.org/10.1016/j.metabol.2017.10.001>

8. WHO recommendations non-clinical interventions to reduce unnecessary caesarean sections [Electronic resource] // World Health Organization. – Mode of access: <https://www.who.int/reproductivehealth/publications/non-clinical-interventions-to-reduce-cs/en/>. – Date of access: 03.08.2019.

9. EBCOG position statement on caesarean section in Europe / European Board and College of Obstetrics and Gynaecology (EBCOG) // *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* – 2017. – Vol. 219. – P. 129.

10. Association between vitamin D deficiency and primary caesarean section / A. Merewood [et al.] // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* – 2009. – Vol. 94, N 3. – P. 940–945. <https://doi.org/10.1210/jc.2008-1217>

11. Scholl, T. O. Maternal vitamin D status and delivery by cesarean / T. O. Scholl, X. Chen, P. Stein // *Nutrients.* – 2012. – Vol. 4, N 4. – P. 319–330. <https://doi.org/10.3390/nu4040319>

12. Fiscoletti, M. The importance of vitamin D in maternal and child health: a global perspective / M. Fiscoletti, P. Stewart, C. F. Munns // *Publ. Health Rev.* – 2017. – Vol. 38, N 1. – Art. 19. <https://doi.org/10.1186/s40985-017-0066-3>

13. Agarwal, S. Vitamin D and its impact on maternal-fetal outcomes in pregnancy: a critical review / S. Agarwal, O. Kovilam, D. K. Agrawal // *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* – 2018. – Vol. 58, N 5. – P. 755–769. <https://doi.org/10.1080/10408398.2016.1220915>

14. Vitamin D supplementation during pregnancy: state of the evidence from a systematic review of randomised trials / D. E. Roth [et al.] // *BMJ.* – 2017. – Vol. 359. – P. j5237. <https://doi.org/10.1136/bmj.j5237>

15. The effect of vitamin D supplementation on glycaemic control in women with gestational diabetes mellitus: a systematic review and meta-analysis of randomised controlled trials / O. Ojo [et al.] // *Int. J. Environ. Res. Publ. Health.* – 2019. – Vol. 16, N 10. – Pii E1716. <https://doi.org/10.3390/ijerph16101716>

16. Средний месячный уровень солнечной радиации в городах Украины [Электронный ресурс]. – Режим доступа : <https://www.atmosfera.ua/stati-geliosistemy/solar-insulation-ukraine>. – Дата доступа : 04.08.2019.

17. Николаева, Л. Б. Первая беременность и первые роды: руководство для врачей / Л. Б. Николаева, Г. А. Ушакова. – М. : ГЭОТАР-Медиа, 2013. – 261 с.

## References

1. Pérez-Hernández N., Aptilon-Duque G., Nostroza-Hernández M. C., Vargas-Alarcón G., Rodríguez-Pérez J. M., Blachman-Braun R. Vitamin D and its effects on cardiovascular diseases: a comprehensive review [Electronic resource]. *Korean Journal of Internal Medicine*, 2016, vol. 31, no. 6, pp. 1018–1029. <https://doi.org/10.3904/kjim.2015.224>

2. Rosen C. J., Adams J. S., Bikle D. D., Black D. M., Demay M. B., Manson J. E., Murad M. H., Kovacs Ch. S. The nonskeletal effects of vitamin D: an endocrine society scientific statement. *Endocrine Reviews*, 2012, vol. 33, no. 3, pp. 456–492. <https://doi.org/10.1210/er.2012-1000>

3. Povoroznyuk V. V., Balats'ka N. I., Klimovits'kii F. V., Sinen'kii O. V., Muts V. Ya. Riven 25 (OH) vitamin D in the overgrowing population of the winter regions of Ukraine. *Problemi osteologii* [Problems of osteology], 2011, vol. 4, no. 14, pp. 3–8 (in Ukrainian).

4. Manasova G. S., Zelinsky A. A., Didenkul N. V., Zhovtenko O. V., Kuzmin N. V. Faulty placentation and attitude in pregnant women with placental dysfunction: revisited of calcitriol possible role in the formation of pathology. *Deutscher Wissenschaftsberod. German Science Gerald*, 2018, no. 4, pp. 23–28.

5. Dovnik A., Mujezinović F. The Association of Vitamin D Levels with Common Pregnancy Complications. *Nutrients*, 2018, vol. 10, no. 7, p. 867. <https://doi.org/10.3390/nu10070867>

6. Kalinchenko S. Yu., Zhilenko M. I., Gusakova D. A., Tyuzikov I. A., Mskhalaya G. Zh., Sablin K. S., Dymova A. V. Vitamin D and women's reproductive health. *Problemy reproduksii* [Reproduction problems], 2016, no. 4, pp. 28–36 (in Russian).

7. Karras S. N., Wagner C. L., Castracane V. D. Understanding vitamin D metabolism in pregnancy: from physiology to pathophysiology and clinical outcomes. *Metabolism*, 2018, vol. 86, pp. 112–123. <https://doi.org/10.1016/j.metabol.2017.10.001>

8. WHO recommendations non-clinical interventions to reduce unnecessary caesarean sections [Electronic resource]. *World Health Organization*. Available at: <https://www.who.int/reproductivehealth/publications/non-clinical-interventions-to-reduce-cs/en/> (accessed 08.03.2019).

9. European Board and College of Obstetrics and Gynaecology (EBCOG). EBCOG position statement on caesarean section in Europe [Electronic resource]. *European Journal of Obstetrics and Gynecology and Reproductive Biology*, 2017, vol. 219, p. 129.

10. Merewood A., Mehta S. D., Chen T. C., Bauchner H., Holick M. F. Association between vitamin D deficiency and primary caesarean section. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 2009, vol. 94, no. 3, pp. 940–945. <https://doi.org/10.1210/jc.2008-1217>

11. Scholl T. O., Chen X., Stein P. Maternal vitamin D status and delivery by cesarean. *Nutrients*, 2012, vol. 4, no. 4, pp. 319–330. <https://doi.org/10.3390/nu4040319>

12. Fiscoletti M., Stewart P., Munns C. F. The importance of vitamin D in maternal and child health: a global perspective. *Public Health Reviews*, 2017, vol. 38, no. 1, art. 19. <https://doi.org/10.1186/s40985-017-0066-3>

13. Agarwal S., Kovilam O., Agrawal D. K. Vitamin D and its impact on maternal-fetal outcomes in pregnancy: a critical review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 2018, vol. 58, no. 5, pp. 755–769. <https://doi.org/10.1080/10408398.2016.1220915>

14. Roth D. E., Leung M., Mesfin E., Qamar H., Watterworth J., Papp E. Vitamin D supplementation during pregnancy: state of the evidence from a systematic review of randomized trials. *BMJ*, 2017, vol. 359, p. j5237. <https://doi.org/10.1136/bmj.j5237>

15. Ojo O., Weldon S. M., Thompson T., Vargo E. J. The effect of vitamin D supplementation on glycaemic control in women with gestational diabetes mellitus: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials [Electronic resource]. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 2019, vol. 16, no. 10, pii E1716. <https://doi.org/10.3390/ijerph16101716>

16. *The average monthly level of solar radiation in the cities of Ukraine*. Available at: <https://www.atmosfera.ua/stati-geliosistemy/solar-insulation-ukraine> (accessed 08.08.2019) (in Russian).

17. Nikolaeva L. B., Ushakova G. A. *First pregnancy and first birth: a guide for doctors*. Moscow, GEOTAR-Media Publ., 2013. 261 p. (in Russian).

### Информация об авторах

*Манасова Гульсум Серикбаевна* – д-р мед. наук, профессор. Одесский национальный медицинский университет (ул. Маршала Говорова, 28, 65009, г. Одесса, Украина). E-mail: [didenkunatalya@gmail.com](mailto:didenkunatalya@gmail.com)

*Диденкул Наталья Васильевна* – аспирант. Одесский национальный медицинский университет (ул. Маршала Говорова, 28, 65009, г. Одесса, Украина). E-mail: [didenkunatalya@gmail.com](mailto:didenkunatalya@gmail.com)

*Шаповал Николай Витальевич* – д-р мед. наук, профессор. Одесский национальный медицинский университет (ул. Маршала Говорова, 28, 65009, г. Одесса, Украина).

*Кузмин Наталья Васильевна* – аспирант. Одесский национальный медицинский университет (ул. Маршала Говорова, 28, 65009, г. Одесса, Украина). E-mail: [tata\\_od\\_us@ukr.net](mailto:tata_od_us@ukr.net)

*Короткая Ксения Викторовна* – аспирант. Одесский национальный медицинский университет (ул. Маршала Говорова, 28, 65009, г. Одесса, Украина).

### Information about the authors

*Gulsym S. Manasova* – D. Sc. (Med.), Professor. Odessa National Medical University (28, Marshal Govorov Str., 65009, Odessa, Ukraine). E-mail: [gulsymmanasova@gmail.com](mailto:gulsymmanasova@gmail.com), <https://orcid.org/0000-0002-1600-5215>

*Natalia V. Didenkul* – Postgraduate student. Odessa National Medical University (28, Marshal Govorov Str., 65009, Odessa, Ukraine). E-mail: [gulsymmanasova@gmail.com](mailto:gulsymmanasova@gmail.com), <https://orcid.org/0000-0002-2766-2894>

*Nikolay V. Shapoval* – D. Sc. (Med.), Professor. Odessa National Medical University (28, Marshal Govorov Str., 65009, Odessa, Ukraine).

*Natalia V. Kuzmin* – Postgraduate student. Odessa National Medical University (28, Marshal Govorov Str., 65009, Odessa, Ukraine). E-mail: [tata\\_od\\_us@ukr.net](mailto:tata_od_us@ukr.net)

*Ksenya V. Korotkaya* – Postgraduate student. Odessa National Medical University (28, Marshal Govorov Str., 65009, Odessa, Ukraine).

ISSN 1814-6023 (Print)

ISSN 2524-2350 (Online)

УДК [616.155.05:618.48]:576.364-092.4

<https://doi.org/10.29235/1814-6023-2020-17-1-78-86>

Поступила в редакцию 18.10.2019

Received 18.10.2019

**А. С. Войтехович<sup>1</sup>, Е. В. Васина<sup>1</sup>, В. С. Костюнина<sup>1</sup>, И. Н. Северин<sup>2</sup>, Н. В. Петевка<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Республиканский научно-практический центр трансфузиологии и медицинских биотехнологий,  
Минск, Республика Беларусь

<sup>2</sup>Республиканский научно-практический центр онкологии и медицинской радиологии  
им. Н. Н. Александрова, Минск, Республика Беларусь

### **ВЛИЯНИЕ ЭНДОТЕЛИАЛЬНЫХ КЛЕТОК НА ЭРИТРОИДНУЮ ДИФФЕРЕНЦИРОВКУ ГЕМОПОЭТИЧЕСКИХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК ПУПОВИННОЙ КРОВИ *IN VITRO***

**Аннотация.** В работе изучено влияние эндотелиальных клеток (ЭК) пуповинной крови на прирост и созревание в эритроидном направлении гемопоэтических клеток при их совместном культивировании, а также экспрессия генов «взрослого» и фетального гемоглобина при эритроидной дифференцировке в условиях моделирования васкулярной ниши *in vitro*. Использованы культуральные методы, проточная цитометрия, полимеразная цепная реакция в реальном времени и морфологический анализ цитологических препаратов.

Разработан метод эритроидной дифференцировки гемопоэтических стволовых клеток пуповинной крови в условиях моделирования васкулярной ниши костного мозга *in vitro*. Установлено, что полученные из мононуклеаров пуповинной крови CD34<sup>+</sup>CD31<sup>+</sup>CD144<sup>+</sup>CD105<sup>+</sup>CD90<sup>+</sup>CD45<sup>-</sup> предшественники эндотелиальных клеток (ПЭК) стимулируют эритроидную дифференцировку гемопоэтических CD34<sup>+</sup> клеток пуповинной крови и прирост предшественников эритроидного ряда при совместном культивировании с 4-х по 11-е сутки в присутствии фактора стволовых клеток, эритропоэтина и фактора роста фибробластов-2. Моделирование *in vitro* васкулярной ниши с использованием ПЭК пуповинной крови позволяет получить прирост зрелых CD36<sup>+</sup>CD235a<sup>+</sup> клеток эритроидного ряда в 2,5 раза выше, чем в условиях суспензионной культуры без вспомогательных клеток. Микроокружение ЭК не влияет на уровень и соотношение экспрессии фетального и «взрослого» типов гемоглобина в ходе дифференцировки *in vitro*.

**Ключевые слова:** эритроидная дифференцировка *in vitro*, гемопоэтические клетки пуповинной крови человека, эндотелиальные клетки пуповинной крови человека

**Для цитирования:** Влияние эндотелиальных клеток на эритроидную дифференцировку гемопоэтических стволовых клеток пуповинной крови *in vitro* / А. С. Войтехович [и др.] // Вест. Нац. акад. наук Беларуси. Сер. мед. наук. – 2020. – Т. 17, № 1. – С. 78–86. <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2020-17-1-78-86>

**Alexander S. Voytehovich<sup>1</sup>, Elena V. Vasina<sup>1</sup>, Viktoryia S. Kastsiunina<sup>1</sup>, Ihar N. Seviaryn<sup>2</sup>, Natalya V. Petyovka<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Republican Scientific and Practical Center of Transfusiology and Medical Biotechnology, Minsk, Republic of Belarus

<sup>2</sup>N. N. Alexandrov National Cancer Centre, ag. Lesnoy, Minsk region, Republic of Belarus

### **INFLUENCE OF THE ENDOTHELIAL CELLS ON THE ERYTHROID DIFFERENTIATION OF UMBILICAL CORD BLOOD HEMATOPOIETIC STEM CELLS *IN VITRO***

**Abstract.** The objective is to study the effect of umbilical cord blood endothelial cells on the hematopoietic cells growth and the maturation in the erythroid direction in co-culture, as well as the expression of adult and fetal hemoglobin genes during erythroid differentiation under the conditions of vascular niche modeling *in vitro*. We used the following research methods: cultural, flow cytometry, real-time PCR and morphological analysis.

We have developed the method of hematopoietic cord blood stem cells erythroid differentiation in co-culture using cord blood endothelial cell progenitors. CD34<sup>+</sup>CD31<sup>+</sup>CD144<sup>+</sup>CD105<sup>+</sup>CD90<sup>+</sup>CD45<sup>-</sup> progenitors of endothelial cells stimulate the erythroid differentiation of hematopoietic CD34<sup>+</sup> cord blood cells and the growth of erythroid progenitors in co-culture from the 4th to 11th day in the presence of the stem cell factor, the erythropoietin and the fibroblast growth factor-2. The *in vitro* modeling of the vascular niche increases the mature CD36<sup>+</sup>CD235a<sup>+</sup> erythroid cells 2.5 times higher than those in the liquid culture. The microenvironment of endothelial cells does not affect the level and expression ratio of fetal and adult hemoglobin during the erythroid differentiation *in vitro*.

**Keywords:** erythroid differentiation *in vitro*, cord blood hematopoietic stem cells, cord blood endothelial cells

**For citation:** Voytehovich A. S., Vasina E. V., Kastsiunina V. S., Seviaryn I. N., Petyovka N. V. Influence of the endothelial cells on the erythroid differentiation of umbilical cord blood hematopoietic stem cells *in vitro*. *Vestsi Natsyyanal'nei akademii navuk Belarusi. Seriya meditsinskikh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2020, vol. 17, no. 1, pp. 78–86 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2020-17-1-78-86>

**Введение.** Биотехнологическое производство клеток крови может быть альтернативой классическому донорству благодаря снижению риска переноса донор-ассоциированных инфекций. Ежегодно в мире заготавливается около 108 млн донаций крови. Около 50 % из них приходится на страны с высоким уровнем дохода, где проживает менее 18 % населения земного шара [1]. Старение населения увеличивает риск гемассоциированных патологий. В Дании, стране с высоким уровнем доходов населения, около 76 % крови переливают лицам в возрасте старше 65 лет [1]. Кровезаменители, обладающие газотранспортной функцией, имеют ряд противопоказаний и побочных эффектов, к тому же ими можно заменить не более 30 % объема циркулирующей крови. Получение эритроцитов *in vitro* является перспективным биотехнологическим направлением в трансфузиологии.

В литературных источниках описаны протоколы получения зрелых клеток эритроидного ряда путем дифференцировки гемопоэтических стволовых клеток (ГСК) из периферической крови, костного мозга [2], пуповинной крови [3], эмбриональных стволовых клеток [4] и плюрипотентных стволовых клеток [5]. Пуповинная кровь рассматривается как наиболее подходящий источник для получения эритроцитов *ex vivo* благодаря доступности и высокому пролиферативному потенциалу ГСК. Одним из подходов к дифференцировке является моделирование *in vitro* условий костномозговой ниши, при котором используется совместное культивирование ГСК с различными вспомогательными клетками – мезенхимальными стромальными клетками (МСК), макрофагами [3, 6], эндотелиальными клетками (ЭК). Показано, что вспомогательные клетки способствуют энуклеации эритроидных предшественников [3, 7]. Сокультивирование с МСК *in vitro* моделирует также остеогенную составляющую костномозговой ниши, в которой *in vivo* происходит созревание эритроцитов. Однако некоторые исследования [8] демонстрируют неспособность МСК индуцировать дифференцировку гемопоэтических клеток в эритроидном направлении.

ЭК вместе с МСК являются неотъемлемой и наиболее многочисленной частью костномозговой ниши. Предполагается, что эндovasкулярная ниша костного мозга отвечает за конечный этап дифференцировки ГСК *in vivo* перед миграцией зрелых клеток в кровеносное русло. Подтверждено, что ЭК могут поддерживать бурст-образующие эритроидные колонии [9] благодаря их способности продуцировать гемопоэтические факторы роста. При этом состав секретируемых цитокинов оптимален для эритропоэза и включает факторы, необходимые для пролиферации и созревания эритрокариобластов (интерлейкин-3, ангиопоэтин-5, ИФР-1-связывающий белок-2, гепарин-связывающий ростовой фактор-8) [10]. После того как в 2000-е годы было обнаружено, что часть предшественников ЭК (ПЭК) может циркулировать в русле пуповинной крови, появилась возможность выделения и получения ЭК костномозговой ниши без аспирации костного мозга [11].

Нерешенной проблемой эритроидной дифференцировки ГСК пуповинной крови *in vitro* остается накопление полученными клетками эритроидного ряда фетального гемоглобина (Hb  $\gamma$ ). Доля эритроцитов в крови новорожденного, содержащих Hb  $\gamma$ , составляет от 50 до 85 %. В течение первого года постэмбрионального развития происходит замещение фетального гемоглобина на «взрослый» тип (Hb  $\beta$ ). Данный процесс обусловлен снижением продукции  $\gamma$ -цепей гемоглобина с одновременной активацией экспрессии  $\beta$ -цепей, что сопровождается каскадом молекулярно-генетических реакций. На сегодняшний день этот процесс до конца не изучен. При дифференцировке *in vitro* содержание клеток с фетальным гемоглобином в зависимости от источника ГСК было различным: от 6 % в случае периферической крови [7] до 60–80 % в вариантах, где источником служила пуповинная кровь [3, 7, 12, 13]. Фетальный гемоглобин менее стабилен в физиологически широких интервалах pH и температур, к тому же он в большей степени способен превращаться в метгемоглобин, блокируя процессы транспортировки кислорода. Влияние ЭК на процесс созревания эритроцитов *in vitro* и накопление в них фетального или «взрослого» гемоглобина не изучено.

Цель работы – исследование влияния эндотелиальных клеток пуповинной крови на прирост и созревание в эритроидном направлении гемопоэтических клеток при их совместном культивировании, а также экспрессии генов «взрослого» и фетального гемоглобина при эритроидной дифференцировке в условиях моделирования васкулярной ниши *in vitro*.

**Материалы и методы исследования.** Образцы пуповинной крови были предоставлены ГУ РНПЦ «Мать и дитя» МЗ РБ после письменного информированного согласия рожениц. Мононуклеарную фракцию клеток пуповинной крови получали путем центрифугирования на градиенте плотности фиколла 1,077 (Histopaque®-1077, Sigma-Aldrich, США).

Для получения ПЭК фракции мононуклеаров культивировали в селективной среде MCDB 131 (Sigma Aldrich, США) в присутствии фактора роста эндотелия сосудов (Life Technologies, США), фактора роста фибробластов-2 (R&D Systems, США), эпидермального фактора роста (R&D Systems, США).

ГСК из мононуклеаров пуповинной крови ( $n = 20$ ) выделяли с помощью CD34-положительной иммуномагнитной сепарации, используя набор EasySep™ Human CD34 Positive Selection Kit (StemCell Technologies, США) согласно инструкции производителя. Жизнеспособность клеток определяли методом исключения трипанового синего.

Протокол дифференцировки включал культивирование ГСК в присутствии фактора стволовых клеток (R&D Systems, США), эритропоэтина (Peprotech, Великобритания), интерлейкина-3 (R&D Systems, США) с 1-х по 4-е сутки, сокультивирование с ПЭК пуповинной крови в присутствии фактора стволовых клеток, эритропоэтина с 4-х по 11-е сутки и дальнейшее созревание (11–20-е сутки) клеток эритроидного ряда с эритропоэтином без поддерживающего слоя. В качестве контроля проводили дифференцировку с аналогичными цитокинами без поддерживающего подслоя.

Оценку уровня экспрессии поверхностных маркеров клеток проводили на проточном цитофлуориметре FACScanto II (Becton Dickinson, США). Клетки окрашивали согласно инструкции производителя антителами против CD34, CD105, CD31, CD36, CD90, CD45, CD235a (Beckman Coulter, США) и против внутриклеточного фетального гемоглобина человека, конъюгированными с флуоресцеин-изотиоцианатом (FITC), фикоэритрином (PE) либо фикоэритрином-цианином (PE-Cy 5.5). В качестве контроля аутофлуоресценции использовали неокрашенные клетки, в каждом образце анализировали не менее 10 тыс. клеток.

Уровень экспрессии генов оценивали методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) в реальном времени. Рибонуклеиновую кислоту (РНК) выделяли из образцов тризолом (Ambion, США) согласно инструкции производителя. Комплементарную дезоксирибонуклеиновую кислоту (ДНК) получали методом обратной транскрипции из образцов тотальной РНК. В состав реакционной смеси входили РНК, праймер Oligo(dT18) (Fermentas, США), дезоксирибонуклеотидтрифосфаты (дНТФ, «Синтол», Россия), ингибитор РНКаз Ribolock (Fermentas, США), обратная транскриптаза RevertAid Premium и 5X буфер (Fermentas, США). Амплификацию осуществляли в течение 40 мин при 55 °С. Обратную транскриптазу инактивировали путем нагревания при 85 °С в течение 10 мин. Полученную кДНК амплифицировали по следующей программе: при 95 °С – 10 мин (активация полимеразы) с дальнейшей амплификацией в течение 40 циклов при 95 °С – 15 с, при 60 °С – 1 мин. Для определения уровня экспрессии генов цепей гемоглобина были сконструированы (приложение PrimerBlast, NCBI, США) и синтезированы («Праймтех», Беларусь) соответствующие пары праймеров (см. таблицу). В качестве референс-гена использовали ген *gapdh* (глицеральдегид 3-фосфат дегидрогеназа). ПЦР в реальном времени осуществляли с помощью прибора Real-Time PCR Detection System (BioRad, США), для проведения анализа использовали пакет программного обеспечения производителя прибора и приложение Bio-Rad CFX Manager.

#### Последовательности праймеров для определения уровня экспрессии генов цепей гемоглобина человека

##### Primers sequences to determine the human hemoglobin gene expression level

Наименование гена	Обозначение	Последовательность праймеров	Размер продукта, п. н.
α-Цепь гемоглобина	<i>hba_f</i>	CAAGTTCCTGGCTTCTGTGAG	157
	<i>hba_r</i>	CTGCCCACTCAGACTTTATTC	
β-Цепь гемоглобина	<i>hbb_f</i>	ACTAAGCTCGCTTTCTTGCTG	109
	<i>hbb_r</i>	CAGAATCCAGATGCTCAAGGC	
γ-Цепь гемоглобина	<i>hbg_f</i>	GGGTCATTTACAGAGGAGG	106
	<i>hbg_r</i>	GTAGACAACCAGGAGCCTTC	

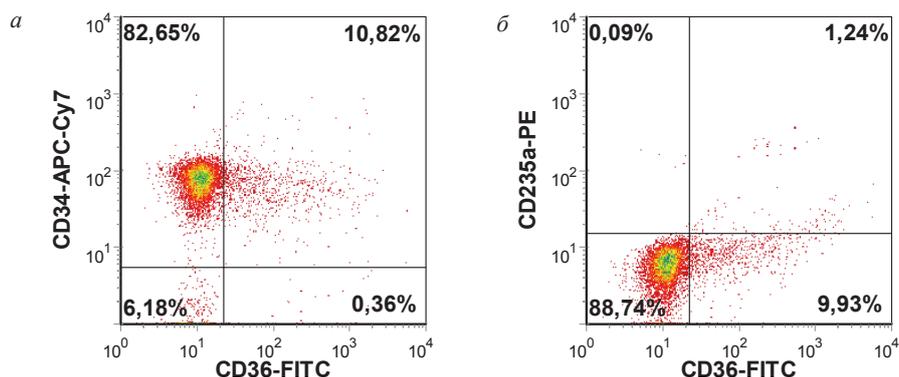


Рис. 1. Точечная диаграмма экспрессии поверхностных кластеров дифференцировки CD34, CD36 (а) и CD235a, CD36 (б) клетками пуповинной крови после положительной по CD34 иммуномагнитной сепарации

Fig. 1. Flow cytometry data analysis of cord blood cells after positive CD34 immunomagnetic separation: а – CD34/CD36 expression, б – CD235a/CD36 expression

Для анализа морфологии и фотографирования клеточных культур использовали инвертированный микроскоп Leica DMIL, снабженный цифровой камерой Leica DFC450 и программным обеспечением.

Окраску клеток производили азур-эозином по методу Романовского–Гимза.

Полученные данные статистически обрабатывали с помощью программного обеспечения GraphPad Prism 5.

**Результаты и их обсуждение.** Объем единицы пуповинной крови в среднем составлял  $70 \pm 30$  мл. Количество мононуклеарных клеток, выделенных из образца пуповинной крови, составило в среднем  $(210 \pm 180) \cdot 10^6$ , после иммуномагнитной сепарации получали  $(1,6 \pm 1,4) \cdot 10^6$  CD34<sup>+</sup> клеток, жизнеспособность которых была близка к 100 %. Большинство клеток (более 80 %) несли характерный для незрелых клеток поверхностный маркер CD34 (рис. 1, а) и слабо экспрессирующийся панлейкоцитарный маркер CD45. Из них не более 10 % экспрессировали общий ранний маркер миелоидной дифференцировки CD36 (рис. 1). Около 1 % ранних клеток было коммитировано в эритроидном направлении. Эта популяция одновременно экспрессировала специфичный для эритроидных клеток антиген гликофорин А (CD235a) и CD36 (рис. 1, б).

Более 95 % полученных ПЭК в культуре показали характерную [6] экспрессию поверхностных кластеров дифференцировки CD34<sup>+</sup>CD31<sup>+</sup>CD144<sup>+</sup>CD105<sup>+</sup>CD90<sup>-</sup>CD45<sup>-</sup>. Для обеспечения возможности сокультивирования гемопоэтических клеток пуповинной крови с ПЭК были протестированы культуральные среды MCDB 131 (Sigma, США), StemSpan (Stemcell, США) и их комбинации с различным сочетанием дифференцировочных факторов, сыворотки и плазмы крови человека, рекомбинантных факторов, поддерживающих эндотелиальный подслоя (данные не представлены). Оптимальной выбрана специализированная для культивирования кроветворных клеток среда StemSpan, в которую были добавлены фактор роста фибробластов-2 и 5 % плазмы крови человека группы АВ. Монослой ПЭК поддерживал конfluence, близкую к 100 % на протяжении 10 сут и более, при этом культура не приобретала признаков стареющей (рис. 2). В данных условиях не происходило адгезии дифференцируемых клеток к поддерживающему подслою, что позволяло адекватно контролировать количество и характеристики клеток эритроидного ряда.

В ходе дифференцировки ГСК экспрессия CD34 и CD45 падала до стадии эритробластных клеток, а экспрессия CD36 и CD235a увеличивалась. Эритроидные предшественники промежуточной стадии созревания (нормобласты) экспрессировали на поверхности одновременно CD36 и CD235a. По мере дальнейшего созревания экспрессия CD36 снижалась. Экспрессия CD235a при отсутствии экспрессии CD36 была характерна для поздних стадий дифференцировки ядерных предшественников и безъядерных эритроцитов [14]. Динамика экспрессии CD34, CD36, CD45 и CD235a в ходе эритроидной дифференцировки *in vitro* представлена на рис. 3.

На 7-е сутки дифференцировки подавляющее большинство клеток уже было коммитировано в эритроидном направлении, что подтверждается экспрессией ими CD235a. При этом в присутствии ПЭК доля клеток, экспрессирующих CD235a, составила более 90 % (рис. 3), тогда как в контроле (без вспомогательных клеток) экспрессия не превышала 80 % (данные не представлены). Клетки имели характерные для эритробластов иммунофенотип  $CD34^-CD45^-CD36^+CD235a^+$  и морфологию (рис. 4). Морфологически дифференцировка эритроидных предшественников сопровождалась уменьшением ядерно-цитоплазматического отношения (ЯЦО). В ходе эксперимента ЯЦО составило  $1,1 \pm 0,2$ ;  $0,91 \pm 0,06$  и  $0,22 \pm 0,03$  на 7, 11 и 20-е сутки соответственно (рис. 4).

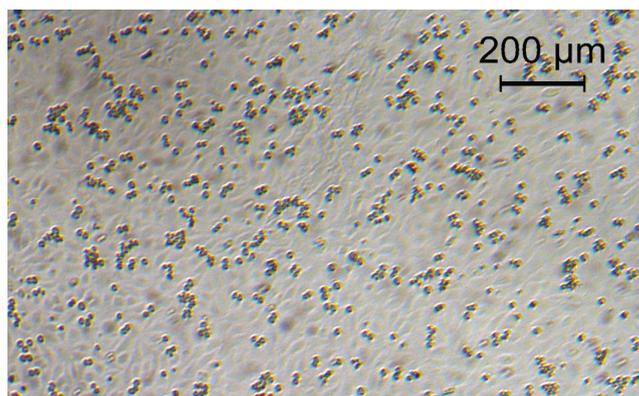


Рис. 2. Вид культивируемых гемопоэтических клеток с предшественниками эндотелиальных клеток пуповинной крови человека на 11-е сутки сокультивирования

Fig. 2. Type of cultured hematopoietic cells with precursors of human umbilical cord blood endothelial cells on the 11th day of co-cultivation

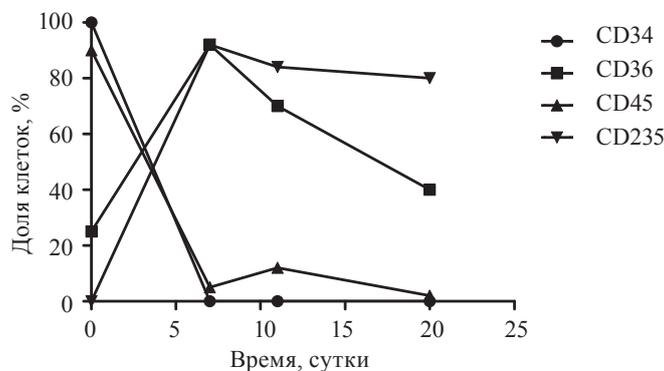


Рис. 3. Динамика экспрессии поверхностных маркеров в ходе эритроидной дифференцировки CD34-положительных клеток пуповинной крови *in vitro* в условиях сокультивирования с предшественниками эндотелиальных клеток

Fig. 3. CD expression dynamics on the cord blood cells in co-cultivation with the progenitors of endothelial cells during erythroid differentiation *in vitro*

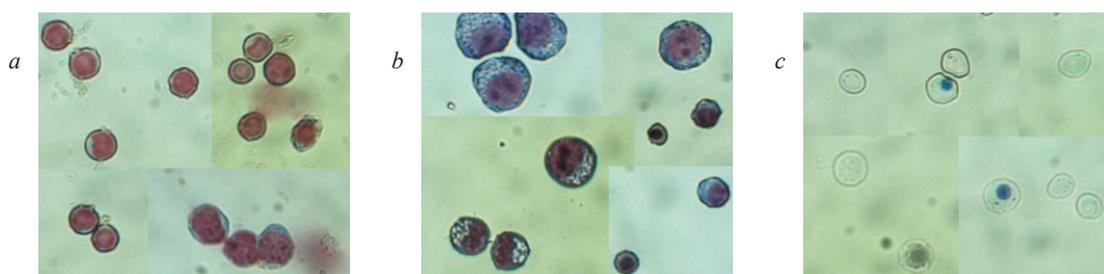


Рис. 4. Морфология клеток пуповинной крови на 7-е (a), 11-е (b) и 20-е (c) сутки эритроидной дифференцировки

Fig. 4. Cord blood cells morphology on the 7th day (a), on the 11th day (b) and on the 20th day (c) of erythroid differentiation

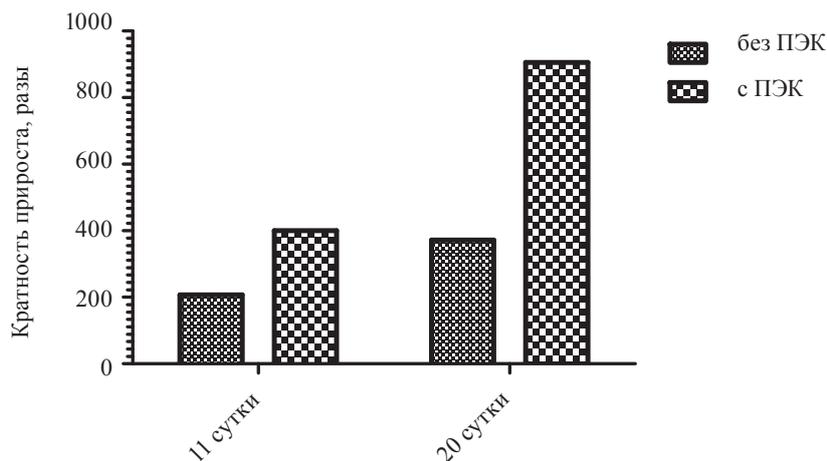


Рис. 5. Динамика прироста CD36-CD235a<sup>+</sup> клеток в расчете на исходную CD34<sup>+</sup> клетку в ходе эритроидной дифференцировки в условиях сокультивирования с ПЭК в сравнении с суспензионной культурой без поддерживающего слоя

Fig. 5. Amplification of CD36-CD235a<sup>+</sup> cells per initial CD34<sup>+</sup> cell on the 11th day and on the 20th day of erythroid differentiation in co-culture with endothelial cells in comparison with suspension culture

К 11-м суткам доля зрелых CD36-CD235a<sup>+</sup> клеток в варианте сокультивирования превысила 40 %, в то время как в контроле – не более 30 %. С 11-х по 20-е сутки клетки дозревали без поддерживающего слоя. Доля зрелых клеток с фенотипом CD36-CD235a<sup>+</sup> на день окончания эксперимента в варианте сокультивирования увеличивалась до 70–75 %, в контроле не превышала 45 %.

Максимальный прирост зрелых CD36-CD235a<sup>+</sup> в расчете на исходную CD34<sup>+</sup> клетку показал 1000-кратное увеличение. Использование вспомогательного подслоя позволило почти в 2,5 раза увеличить количество зрелых клеток по сравнению с контролем (рис. 5). Положительное влияние ЭК пуповинной крови может быть связано с выделением в среду факторов либо частиц (тельца Вайбеля–Паладе), стимулирующих ангиогенез [15]. Так как при сокультивировании не

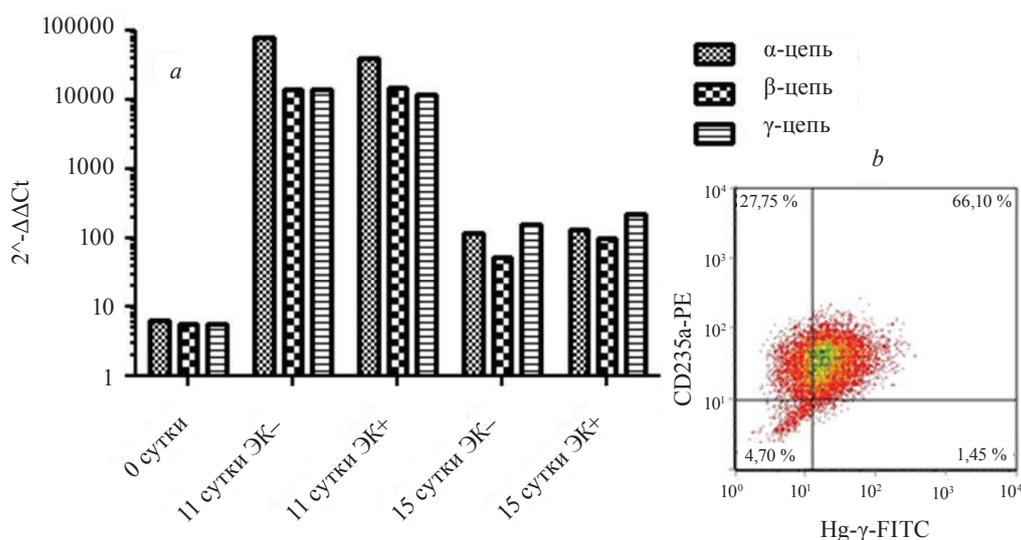


Рис. 6. Экспрессия мРНК цепей гемоглобина в клетках в ходе эритроидной дифференцировки (a) и экспрессия фетального гемоглобина CD235a<sup>+</sup> клетками на 11-е сутки дифференцировки (b). Данные нормализованы по экспрессии гена *gapdh*

Fig. 6. Expression mRNA of the hemoglonin chains during erythroid differentiation (a) and the flow cytometry analysis of fetal hemoglobin in CD235a<sup>+</sup> cells on the 11th day of differentiation (b). The data were normalized to the *gapdh* expression

происходит адгезии гемопоэтических клеток к подслою ПЭК, межклеточные контакты эритроидных предшественников с эндотелиальными, скорее всего, не задействованы и не являются необходимыми.

Анализ экспрессии генов гемоглобина показал, что мРНК цепей гемоглобина обнаруживается в CD34<sup>+</sup> клетках сразу после сепарации, что, вероятно, связано с присутствием некоторого количества (около 1 %) коммитированных в эритроидном направлении клеток (см. рис. 1). По мере созревания эритроидных предшественников и увеличения их доли уровень экспрессии всех цепей гемоглобина возрастает на несколько порядков (рис. 6, а). В терминальной стадии при созревании клеток и накоплении в них необходимого количества гемоглобина экспрессия мРНК его цепей падает (рис. 6, а). Соотношение количества мРНК β и γ-цепей как без подложки, так и при поддержке ПЭК было соизмеримо (выше в  $0,8 \pm 0,3$  раза) и статистически значимо не различалось на всех этапах дифференцировки (рис. 6, а). Определение методом проточной цитометрии содержания внутриклеточного фетального гемоглобина подтверждает результаты ПЦР-анализа (рис. 6, б).

Таким образом, доля клеток, экспрессирующих фетальный гемоглобин, не меняется на всех этапах дифференцировки и соответствует таковой в исходной популяции сепарированных CD34<sup>+</sup> клеток. Сокультивирование с ПЭК не способствовало преимущественному накоплению «взрослого» или фетального гемоглобина.

**Заключение.** Полученные методом адгезии мононуклеаров пуповинной крови человека в селективной среде предшественники эндотелиальных клеток стимулируют эритроидную дифференцировку гемопоэтических CD34<sup>+</sup> клеток пуповинной крови и прирост клеток эритроидного ряда при совместном культивировании с 4-х по 11-е сутки в присутствии фактора стволовых клеток, эритропоэтина и фактора роста фибробластов-2. Микроокружение эндотелиальных клеток не влияет на уровень и соотношение экспрессии фетального и «взрослого» типов гемоглобина в ходе дифференцировки *in vitro*. Разработан метод эритроидной дифференцировки CD34<sup>+</sup> клеток пуповинной крови при поддержке предшественников эндотелиальных клеток пуповинной крови человека, позволяющий в 2,5 раза увеличить прирост CD36<sup>-</sup>CD235a<sup>+</sup> клеток эритроидного ряда.

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

**Благодарности.** Исследование выполнено при поддержке Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований, проект Б16М-090.

**Acknowledgements.** The study was supported by the Belarusian Republican Foundation for Basic Research, project B16M-090.

### Список использованных источников

1. Доклад о состоянии здравоохранения в Европе, 2015. Целевые ориентиры и более широкая перспектива – новые рубежи в работе с фактическими данными [Электронный ресурс]. – Режим доступа : [http://www.euro.who.int/\\_\\_data/assets/pdf\\_file/0006/293739/European-health-report-2015-full-book-ru.pdf](http://www.euro.who.int/__data/assets/pdf_file/0006/293739/European-health-report-2015-full-book-ru.pdf). – Дата доступа : 26.12.2019.
2. *In vitro* mass production of human erythroid cells from the blood of normal donors and of thalassemic patients / G. Migliaccio [et al.] // Blood Cells, Mol. Dis. – 2002. – Vol. 28, N 2. – P. 169–180. <https://doi.org/10.1006/bcmd.2002.0502>
3. *In vitro* clinical-grade generation of red blood cells from human umbilical cord blood CD34<sup>+</sup> cells / E. J. Baek [et al.] // Transfusion. – 2008. – Vol. 48, N 10. – P. 2235–2245. <https://doi.org/10.1111/j.1537-2995.2008.01828.x>
4. Generation of functional erythrocytes from human embryonic stem cell-derived definitive hematopoiesis / F. Ma [et al.] // Proceedings of the National Academy of Sciences. – 2008. – Vol. 105, N 35. – P. 13087–13092. <https://doi.org/10.1073/pnas.0802220105>
5. Red blood cell generation from human induced pluripotent stem cells: perspectives for transfusion medicine / H. Lapillonne [et al.] // Haematologica. – 2010. – Vol. 95, N 10. – P. 1651–1659. <https://doi.org/10.3324/haematol.2010.023556>
6. *Ex vivo* large-scale generation of human red blood cells from cord blood CD34<sup>+</sup> cells by co-culturing with macrophages / A. Fujimi [et al.] // Hematology. – 2008. – Vol. 87. – P. 339–350. <https://doi.org/10.1007/s12185-008-0062-y>
7. *Ex vivo* generation of fully mature human red blood cells from hematopoietic stem cells / M.-C. Giarratana [et al.] // Nat. Biotechnol. – 2005. – Vol. 23, N 1. – P. 69–74. <https://doi.org/10.1038/nbt1047>
8. Inhibitory effect of mesenchymal stem cell co-culture on erythroid differentiation of K562 cells compared to the control group / M. Saleh [et al.] // Cell J. – 2017. – Vol. 19, N 1. – P. 127–136. <https://doi.org/10.22074/cellj.2016.4133>

9. Human bone marrow-derived mesenchymal stem cells in the treatment of gliomas / A. Nakamizo [et al.] // *Cancer Res.* – 2005. – Vol. 65, N 8. – P. 3307–3318. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-04-1874>
10. An evolving new paradigm: endothelial cells – conditional innate immune cells / J. Mai [et al.] // *J. Hematol. Oncol.* – 2013. – Vol. 6, N 1. – P. 61. <https://doi.org/10.1186/1756-8722-6-61>
11. Improving the characterization of endothelial progenitor cell subsets by an optimized FACS protocol / K. Huizer [et al.] // *PLoS ONE.* – 2017. – Vol. 12, N 9. – P. e0184895. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0184895>
12. Erythropoietic potential of CD34+ hematopoietic stem cells from human cord blood and G-CSF-mobilized peripheral blood / H. Jin [et al.] // *BioMed Res. Int.* – 2014. – Vol. 2014. – P. 1–9. <https://doi.org/10.1155/2014/435215>
13. Proof of principle for transfusion of *in vitro*-generated red blood cells / M.-C. Giarratana [et al.] // *Blood.* – 2011. – Vol. 118, N 19. – P. 5071–5079. <https://doi.org/10.1182/blood-2011-06-362038>
14. Immunophenotypic profile of nucleated erythroid progenitors during maturation in regenerating bone marrow / M. Fajtova [et al.] // *Leukemia & Lymphoma.* – 2013. – Vol. 54, N 11. – P. 2523–2530. <https://doi.org/10.3109/10428194.2013.781167>
15. Weibel-palade bodies as a marker for neovascularization induced by tumor and rheumatoid angiogenesis factors / P. Kumar [et al.] // *Cancer Res.* – 1985. – Vol. 45, N 9. – P. 4339–4348.

## References

1. The European health report 2015. Targets and beyond – reaching new frontiers in evidence. Highlights. Available at: [http://www.euro.who.int/\\_\\_data/assets/pdf\\_file/0008/284750/EHR\\_High\\_EN\\_WEB.pdf?ua=1](http://www.euro.who.int/__data/assets/pdf_file/0008/284750/EHR_High_EN_WEB.pdf?ua=1) (accessed 26.12.2019).
2. Migliaccio G., di Pietro R., di Giacomo V., di Baldassarre A., Migliaccio A. R., Maccioni L., Galanello R., Papayanopoulou T. *In vitro* mass production of human erythroid cells from the blood of normal donors and of thalassemic patients. *Blood Cells, Molecules, and Diseases*, 2002, vol. 28, no. 2, pp. 169–180. <https://doi.org/10.1006/bcmd.2002.0502>
3. Baek E. J., Kim H.-S., Kim S., Jin H., Choi T.-Y., Kim H. O. *In vitro* clinical-grade generation of red blood cells from human umbilical cord blood CD34+ cells. *Transfusion*, 2008, vol. 48, no. 10, pp. 2235–2245. <https://doi.org/10.1111/j.1537-2995.2008.01828.x>
4. Ma F., Ebihara Y., Umeda K., Sakai H., Hanada S., Zhang H. [et al.]. Generation of functional erythrocytes from human embryonic stem cell-derived definitive hematopoiesis. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2008, vol. 105, no. 35, pp. 13087–13092. <https://doi.org/10.1073/pnas.080220105>
5. Lapillonne H., Kobari L., Mazurier C., Tropel P., Giarratana M.-C., Zanella-Cleon I. [et al.]. Red blood cell generation from human induced pluripotent stem cells: perspectives for transfusion medicine. *Haematologica*, 2010, vol. 95, no. 10, pp. 1651–1659. <https://doi.org/10.3324/haematol.2010.023556>
6. Fujimi A., Matsunaga T., Kobune M., Kawano Y., Nagaya T., Tanaka I. [et al.]. *Ex vivo* large-scale generation of human red blood cells from cord blood CD34+ cells by co-culturing with macrophages. *Hematology*, 2008, vol. 87, no. 4, pp. 339–350. <https://doi.org/10.1007/s12185-008-0062-y>
7. Giarratana M.-C., Kobari L., Lapillonne H., Chalmers D., Kiger L., Cynober T., Marden M. C., Wajcman H., Douay L. *Ex vivo* generation of fully mature human red blood cells from hematopoietic stem cells. *Nature Biotechnology*, 2005, vol. 23, no. 1, pp. 69–74. <https://doi.org/10.1038/nbt1047>
8. Saleh M., Shamsasanjan K., Movassaghpour A. A., Akbarzadehlaleh P., Molaeipour Z. Inhibitory effect of mesenchymal stem cell co-culture on erythroid differentiation of K562 cells compared to the control group. *Cell Journal*, 2017, vol. 19, no. 1, pp. 127–136. <https://doi.org/10.22074/cellj.2016.4133>
9. Nakamizo A., Marini F., Amano T., Khan A., Studeny M., Gumin J. [et al.]. Human bone marrow-derived mesenchymal stem cells in the treatment of gliomas. *Cancer Research*, 2005, vol. 65, no. 8, pp. 3307–3318. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-04-1874>
10. Mai J., Virtue A., Shen J., Wang H., Yang X.-F. An evolving new paradigm: endothelial cells – conditional innate immune cells. *Journal of Hematology and Oncology*, 2013, vol. 6, no. 1, p. 61. <https://doi.org/10.1186/1756-8722-6-61>
11. Huizer K., Mustafa D. A. M., Spelt J. C., Kros J. M., Sacchetti A. Improving the characterization of endothelial progenitor cell subsets by an optimized FACS protocol. *PLoS ONE*, 2017, vol. 12, no. 9, p. e0184895. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0184895>
12. Jin H., Kim H.-S., Kim S., Kim H. O. Erythropoietic potential of CD34+ hematopoietic stem cells from human cord blood and G-CSF-mobilized peripheral blood. *BioMed Research International*, 2014, vol. 2014, pp. 1–9. <https://doi.org/10.1155/2014/435215>
13. Giarratana M.-C., Rouard H., Dumont A., Kiger L., Safeukui I., le Pennec P.-Y. [et al.]. Proof of principle for transfusion of *in vitro*-generated red blood cells. *Blood*, 2011, vol. 118, no. 19, pp. 5071–5079. <https://doi.org/10.1182/blood-2011-06-362038>
14. Fajtova M., Kovarikova A., Svec P., Kankuri E., Sedlak J. Immunophenotypic profile of nucleated erythroid progenitors during maturation in regenerating bone marrow. *Leukemia & Lymphoma*, 2013, vol. 54, no. 11, pp. 2523–2530. <https://doi.org/10.3109/10428194.2013.781167>
15. Kumar P., Erroi A., Sattar A., Kumar S. Weibel-palade bodies as a marker for neovascularization induced by tumor and rheumatoid angiogenesis factors. *Cancer Research*, 1985, vol. 45, no. 9, pp. 4339–4348.

### Информация об авторах

*Войтехович Александр Сергеевич* – аспирант. Республиканский научно-практический центр трансфузиологии и медицинских биотехнологий (Долгиновский тракт, 160, 220053, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: voytehovichas@gmail.com

*Васина Елена Викторовна* – науч. сотрудник. Республиканский научно-практический центр трансфузиологии и медицинских биотехнологий (Долгиновский тракт, 160, 220053, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: vasina.bio@gmail.com

*Костюнина Виктория Сергеевна* – науч. сотрудник. Республиканский научно-практический центр трансфузиологии и медицинских биотехнологий (Долгиновский тракт, 160, 220053, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: vkostynina@gmail.com

*Северин Игорь Николаевич* – биолог. Республиканский научно-практический центр онкологии и медицинской радиологии им. Н. Н. Александрова (223040, аг. Лесной, Минский р-н, Республика Беларусь). E-mail: ihar.in@gmail.com

*Петевка Наталья Васильевна* – канд. хим. наук, заведующий лабораторией. Республиканский научно-практический центр трансфузиологии и медицинских биотехнологий (Долгиновский тракт, 160, 220053, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: npet@blood.by

### Information about the authors

*Alexander S. Voytehovich* – Postgraduate student. National Research Center of Transfusiology and Medical Biotechnology (160, Dolginovsky tract, 220053, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: voytehovichas@gmail.com

*Elena V. Vasina* – Researcher. National Research Center of Transfusiology and Medical Biotechnology (160, Dolginovsky tract, 220053, Minsk, Republic of Belarus) E-mail: vasina.bio@gmail.com

*Viktoryia S. Kastsiunina* – Researcher. National Research Center of Transfusiology and Medical Biotechnology (160, Dolginovsky tract, 220053, Minsk, Republic of Belarus) E-mail: vkostynina@gmail.com

*Ihar N. Seviaryn* – Biologist. *N. N. Alexandrov National Cancer Centre* (ag. Lesnoy, 223040, Minsk region, Republic of Belarus). E-mail: ihar.in@gmail.com

*Natalya V. Petyovka* – Ph. D. (Chem.), Head of the Laboratory. National Research Center of Transfusiology and Medical Biotechnology (160, Dolginovsky tract, 220053, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: npet@blood.by

ISSN 1814-6023 (Print)  
ISSN 2524-2350 (Online)  
УДК 616.1/9  
<https://doi.org/10.29235/1814-6023-2020-17-1-87-100>

Поступила в редакцию 12.11.2019  
Received 12.11.2019

А. А. Гусина<sup>1</sup>, А. С. Сталыбко<sup>1</sup>, К. А. Криницкая<sup>1</sup>, В. Ф. Иванова<sup>2</sup>, Н. В. Румянцева<sup>1</sup>,  
В. Д. Кулак<sup>1</sup>, Т. В. Зубова<sup>1</sup>, Н. Б. Гусина<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Республиканский научно-практический центр «Мать и дитя», Минск, Республика Беларусь

<sup>2</sup>Белорусский государственный медицинский университет, Минск, Республика Беларусь

## МУТАЦИИ В ГЕНЕ *FBNI* У ПАЦИЕНТОВ С ВРОЖДЕННЫМ ПОДВЫВИХОМ ХРУСТАЛИКА ПРИ СИНДРОМЕ МАРФАНА

**Аннотация.** Распространенность врожденного подвывиха хрусталика составляет 7–10 случаев на 100 000 человек. Наиболее частыми причинами врожденного смещения хрусталика (у 25–85 % пациентов с данной патологией) являются мутации в гене *FBNI*.

Цель исследования – установить мутации в гене *FBNI* у пациентов с врожденным смещением хрусталика и в их семьях.

В исследуемую группу были включены три семьи, члены которых (дети и взрослые) имели врожденную дислокацию хрусталика. Для анализа нуклеотидной последовательности гена *FBNI* использовали метод прямого секвенирования, для оценки патогенности выявленных мутаций – Гентские критерии от 2010 г.

По результатам исследования у пробанда 1 и ее брата выявлена мутация с.1884C>G (p.Cys628Trp) в гетерозиготном состоянии в 16-м экзоне гена *FBNI*. У пробанда 2 обнаружена мутация с.2461T>A (p.Cys821Ser) в гетерозиготном состоянии в 21-м экзоне, у родителей и здорового брата данная мутация отсутствовала. У пробанда 3 и ее матери идентифицирована мутация с.7851delC (p.Cys2617Trpfs\*65) в гетерозиготном состоянии в 64-м экзоне. В соответствии с Гентской классификацией пересмотра 2010 г. всем пробандам и их родственникам на основании клинических проявлений, данных молекулярно-генетических исследований был установлен диагноз синдрома Марфана (СМ).

Таким образом, у пациентов с врожденным смещением хрусталика, обусловленным СМ, нами обнаружены три не описанные ранее в литературе патогенные мутации в 16, 21 и 64-м экзонах гена *FBNI*. Уточнен спектр клинических проявлений СМ, характерный для выявленных мутаций.

**Ключевые слова:** подвывих хрусталика, синдром Марфана, мутации в гене *FBNI*, хирургическая коррекция подвывиха хрусталика, медикаментозная профилактика формирования аневризмы и разрыва аорты

**Для цитирования:** Мутации в гене *FBNI* у пациентов с врожденным подвывихом хрусталика при синдроме Марфана / А. А. Гусина [и др.] // Вест. Нац. акад. наук Беларусі. Сер. мед. навук. – 2020. – Т. 17, № 1. – С. 87–100. <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2020-17-1-87-100>

Asya A. Gusina<sup>1</sup>, Nastya S. Stalybko<sup>1</sup>, Karina A. Krinitskaya<sup>1</sup>, Valentina F. Ivanova<sup>2</sup>, Natalia V. Rumyantseva<sup>1</sup>,  
Victoria D. Kulak<sup>1</sup>, Tatiana V. Zubova<sup>1</sup>, Nina B. Gusina<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Republican Scientific Practical Centre “Mother and Child”, Minsk, Republic of Belarus

<sup>2</sup>Belarusian State Medical University, Minsk, Republic of Belarus

## *FBNI* GENE MUTATIONS IN PATIENTS WITH CONGENITAL ECTOPIA LENTIS CAUSED BY MARFAN SYNDROME

**Abstract.** The prevalence of congenital ectopia lentis is 7–10 cases per 100 000 people. The most common causes of congenital lens displacement are the *FBNI* gene mutations that have been found in 25–85 % of patients with this pathology.

The aim of the study is to establish the *FBNI* gene mutations in patients with congenital lens displacement and in their families.

The study group included three families with children and adults suffered from the congenital lens dislocation. The nucleotide sequence of the *FBNI* gene was analyzed by direct sequencing. The pathogenicity of the identified mutations was assessed using the Ghent criteria revised in 2010.

The mutation c.1884C>G (p.Cys628Trp) in the heterozygous state in the 16<sup>th</sup> exon of the *FBNI* gene was detected in proband 1 and her brother. Proband 2 was found to be a heterozygous carrier of the mutation c.2461T>A (p.Cys821Ser) in the 21<sup>st</sup> exon; this mutation was absent in parents and a healthy brother. The mutation c.7851delC (p.Cys2617Trpfs\*65) in the heterozygous state in the 64<sup>th</sup> exon was identified in proband 3 and her mother. In accordance with the revised Ghent classification and the clinical manifestations and molecular genetic studies, Marfan’s syndrome (MS) was diagnosed in all probands and their affected relatives.

We detected three pathogenic mutations not previously described in the literature in the 16<sup>th</sup>, 21<sup>st</sup>, and 64<sup>th</sup> exons of the *FBNI* gene in patients with congenital ectopia lentis caused by MS. We established the spectrum of clinical manifestations of MS characteristic for the identified mutations.

**Keywords:** ectopia lentis, Marfan syndrome, mutations in *FBNI* gene, surgical correction of the lens subluxation, drug prevention of aneurysm formation and aortic rupture

**For citation:** Gusina A. A., Stalybko N. S., Krinitskaya K. A., Ivanova V. F., Rumyantseva N. V., Kulak V. D., Zubova T. V., Gusina N. B. *FBNI* gene mutations in patients with congenital ectopia lentis caused by Marfan syndrome. *Vesti Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seriya meditsinskikh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2020, vol. 17, no. 1, pp. 87–100 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2020-17-1-87-100>

**Введение.** Распространенность нарушений остроты зрения и слепоты в детском возрасте в Республике Беларусь составляет 10 и 1,2 случая соответственно на 10 000 детей [1]. В структуре причин этой патологии зрительного анализатора у детей доля врожденных аномалий хрусталика составляет 10,0–19,5 % [2], при этом значительное место принадлежит смещению хрусталика. Случаи дислокации хрусталика, не связанные с травмой, как правило, обусловлены генетически. Распространенность врожденного смещения хрусталика составляет 7–10 случаев на 100 000 человек [3, 4]. Наиболее частой причиной врожденного вывиха хрусталика являются мутации в гене фибриллина-1 (*FBNI*), которые обнаруживают у 25–85 % пациентов с данной патологией [5, 6]. В 1991 г. было показано, что мутации в гене *FBNI* приводят к развитию синдрома Марфана (СМ) – системного заболевания соединительной ткани с аутосомно-доминантным типом наследования [7]. Позднее мутации *FBNI* были обнаружены не только при СМ, но и при других наследственных заболеваниях со сходными фенотипическими проявлениями, что позволило объединить все эти нозологии в одну группу с общим названием «фибриллинопатии первого типа». Ключевое отличие СМ от других фибриллинотипий – наличие дилатации аорты, которая обычно регистрируется на уровне синусов Вальсальвы, и связанный с этим риск развития угрожающих жизни осложнений. В соответствии с актуальными Гентскими критериями диагностика СМ основывается на выявлении основных клинических симптомов заболевания (расширение аорты и смещение хрусталика), других признаков системного поражения соединительной ткани,отягощенного семейного анамнеза и патогенных мутаций в гене *FBNI* [8]. Диагноз СМ правомочен, когда доказано вовлечение в патологический процесс аорты. Это означает, что факт дилатации аорты должен быть документирован либо у самого пациента, либо у его пораженного родственника, или должно быть установлено носительство мутации в гене *FBNI*, ассоциированной с такой патологией. В остальных случаях используют альтернативные диагнозы: синдром эктопии хрусталика, MASS – фенотип, синдром пролапса митрального клапана (ПМК).

Цель исследования – установить мутации в гене *FBNI* у пациентов с врожденным смещением хрусталика и в их семьях.

**Объекты и методы исследования.** Объектами исследования являлись пациенты с врожденным подвывихом хрусталика и их родственники.

В исследуемую группу были включены три семьи, члены которых (дети и взрослые) имели врожденную дислокацию хрусталика, – 3 пробанда, 3 родителя и 2 сибса.

Для поиска мутаций в гене *FBNI* в лаборатории цитогенетических, молекулярно-генетических и морфологических исследований Республиканского научно-практического центра «Мать и дитя» были выполнены молекулярно-генетические исследования пробанду 1 и ее брату, у которого отмечены аналогичные клинические проявления, пробанду 2, его фенотипически здоровым родителям и сибсу, пробанду 3 и ее пораженной матери. Все обследованные лица дали информированное согласие на проведение молекулярно-генетического тестирования. Форма информированного согласия была разработана в соответствии с требованиями Закона Республики Беларусь «О здравоохранении».

В качестве материала для исследования использовали образцы ДНК, выделенные из лейкоцитов с помощью метода солевой экстракции [9]. Для анализа нуклеотидной последовательности гена *FBNI* использовали метод прямого секвенирования по Сэнгеру на автоматическом анализаторе ABI 3500 (Applied Biosystems, США), для анализа данных секвенирования – программное обеспечение SeqScape Software3 v3.0 и Sequencing Analysis Software6 v6.0. Амплификацию экзонов гена осуществляли на амплификаторе Veriti Thermal Cycler (Applied Biosystems, США) с помощью олигонуклеотидных праймеров, предложенных G. Nijbroek с соавт. [10]. Данные соотносили с референтной последовательностью NM\_000138.5. Поиск мутаций осуществля-

ли в открытых базах данных о мутациях в гене *FBN1* (<http://www.umd.be/FBN1/>, [https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/?term=FBN1\[gene\]](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/?term=FBN1[gene])).

Патогенность выявленных мутаций оценивали на основании Гентских критериев от 2010 г., а также с использованием ресурса VarSome (<https://varsome.com/>).

**Результаты исследования.** Семья 1. У пробанда 1 дислокация хрусталика диагностирована с рождения. В 14 лет в связи с развитием катаракты хрусталики были удалены. К генетику пациентка впервые обратилась в 24 года. При сборе анамнеза выяснилось, что у нее есть старшая сестра, которая страдает врожденной катарактой, и младший брат, у которого при рождении также был диагностирован подвывих хрусталиков. Уточнить сведения о родителях оказалось невозможным. Родословная пробанда 1 представлена на рис. 1.

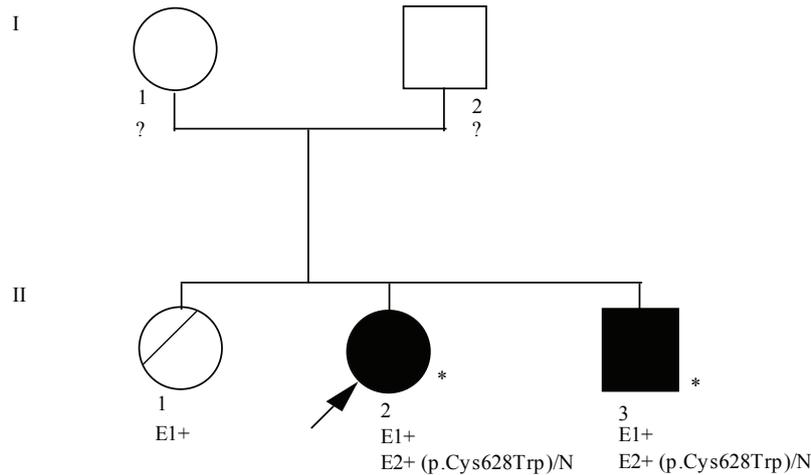


Рис. 1. Родословная семьи 1 по результатам осмотра офтальмолога (E1) и секвенирования гена *FBN1* (E2); \* – документальное подтверждение исследования; II.1 – врожденная катаракта; II.2, II.3, – СМ

Fig. 1. Pedigree of Family 1. Ophthalmologist’s examination indicated as E1, *FBN1* gene sequencing indicated as E2, documented evaluation (\*). II.1 – congenital cataract, II.2, II.3, – MS

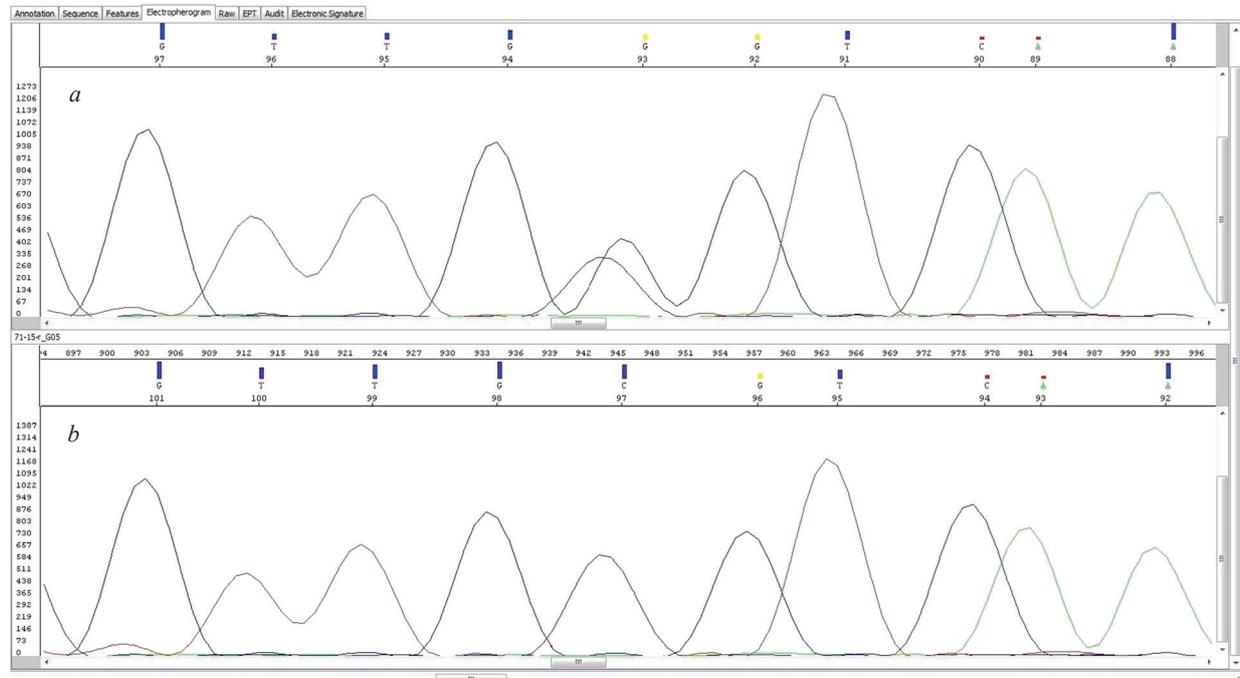


Рис. 2. Мутация p.Cys628Trp в 16-м экзоне гена *FBN1* в гетерозиготном состоянии у пробанда 1 (a), нормальная последовательность в контрольном образце (b)

Fig. 2. Heterozygous mutation p.Cys628Trp in exon 16 *FBN1* gene in proband 1 (a), normal sequence in control subject (b)



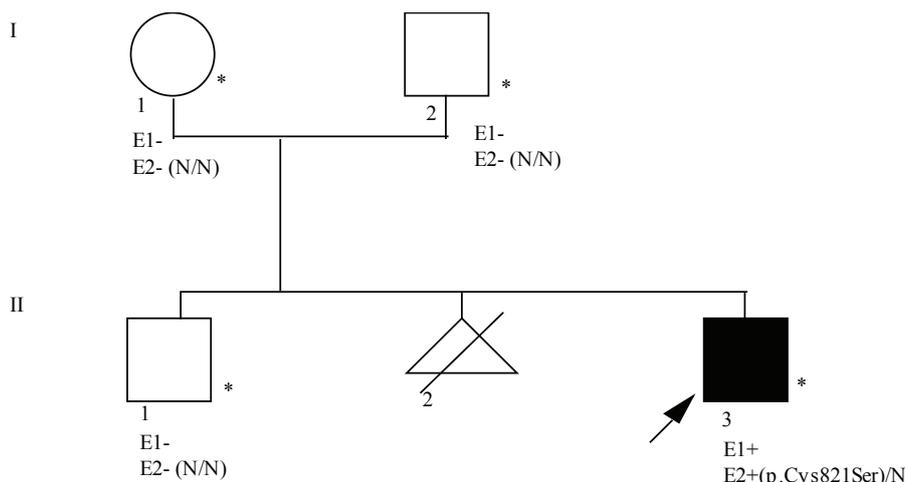


Рис. 4. Родословная семьи 2 по результатам осмотра офтальмолога (E1) и секвенирования гена *FBN1* (E2); \* – документальное подтверждение исследования; II.3 – СМ

Fig. 4. Pedigree of Family 2. Ophthalmologist's examination indicated as E1, *FBN1* gene sequencing indicated as E2, documented evaluation (\*), II.3 – MS

*Семья 3.* У пробанда 3 врожденный подвывих хрусталиков обоих глаз диагностирован в возрасте 5 лет. В возрасте 6 лет хрусталики, люксованные в стекловидное тело, были удалены. С 4 лет девочка наблюдается кардиологом в связи с обнаруженными при ЭХО-КГ недостаточностью митрального клапана 3-й степени, ПМК 2-й степени, дисфункцией аортального клапана, расширением полостей левого и правого желудочков. Врачом-генетиком пациентка впервые проконсультирована в возрасте 8 лет. При сборе анамнеза установлено, что у матери пробанда в возрасте 8 лет имелся подвывих хрусталиков обоих глаз, а в 10 лет ей был установлен диагноз СМ. Родословная семьи 3 представлена на рис. 5.

При осмотре пробанда психоречевое развитие соответствовало возрасту. Были отмечены: рост 136 см (95-й перцентиль), высокое небо, килевидная деформация грудной клетки, грудно-

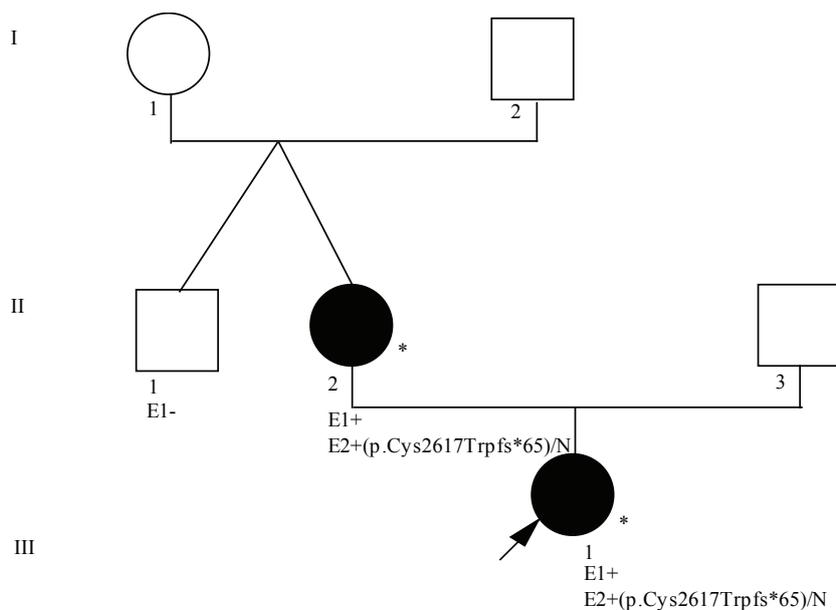


Рис. 5. Родословная семьи 3 по результатам осмотра офтальмолога (E1) и секвенирования гена *FBN1* (E2); \* – документальное подтверждение исследования; II.2, III.1 – СМ

Fig. 5. Pedigree of Family 3. Ophthalmologist's examination indicated as E1, *FBN1* gene sequencing indicated as E2, documented evaluation (\*), II.2, III.1 – MS

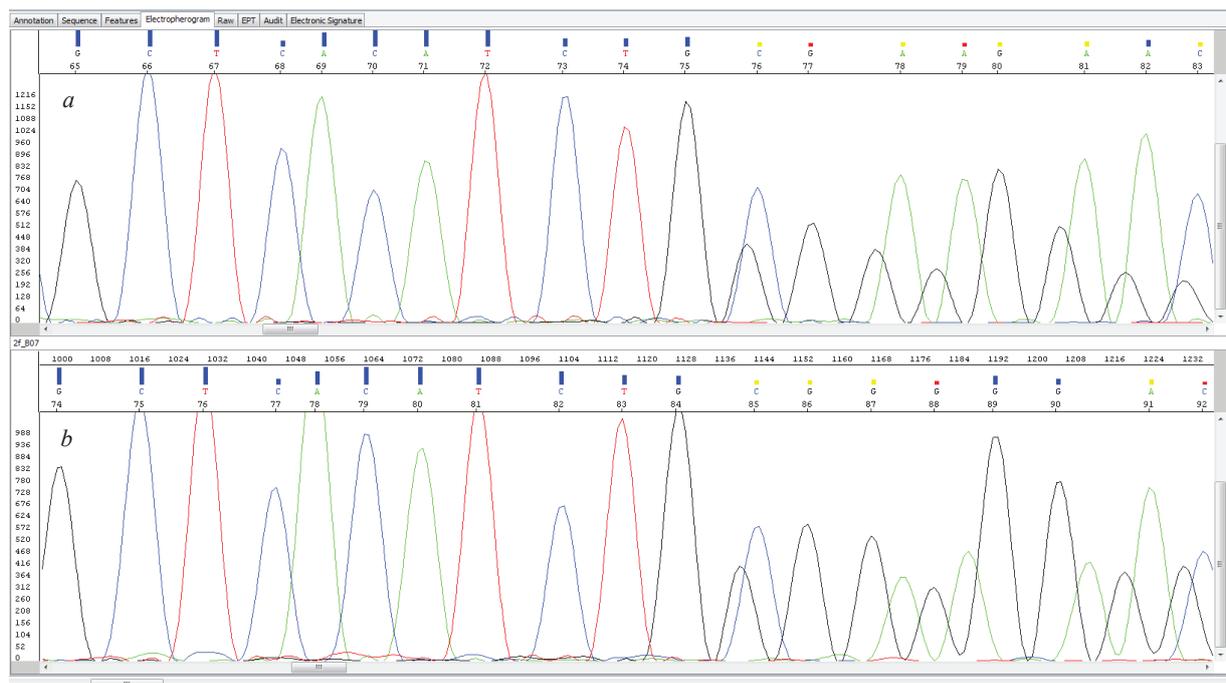


Рис. 6. Мутация p.Cys2617Trpfs\*65 в 64-м экзоне гена *FBNI* в гетерозиготном состоянии у пробанда 3 (b) и ее матери (a)  
 Fig. 6. Heterozygous mutation p.Cys2617Trpfs\*65 in exon 64 *FBNI* gene in proband 3 (b) and her mother (a)

поясничный сколиоз 1-й степени, вальгусная деформация голеней, арахнодактилия, сандалевидная щель обеих стоп. При повторном осмотре в 17 лет: удлиненное лицо, диспластичные уши, высокое нёбо, стрии на коже живота и поясничной области, килевидная деформация грудной клетки, гипермобильность в локтевых, лучезапястных, голеностопных суставах, плоскостопие. При ЭХО-КГ констатированы ПМК 2-й степени с регургитацией 2-й степени. Кардиологом установлены НК 1-й степени, вегетативная дисфункция смешанного типа с нарушением ритма сердца (желудочковая и суправентрикулярная экстрасистолия). Ортопедом выявлены S-образный груднопоясничный сколиоз 2-й степени, продольное плоскостопие. Окулистом отмечены афакия обоих глаз, постоперационная деформация радужки правого глаза, амблиопия. При осмотре матери в возрасте 36 лет: рост 173 см, узкое лицо, высокое нёбо, стрии на коже живота, поясничной области и бедер, килевидная деформация грудной клетки, сколиоз, арахнодактилия, вальгусная деформация коленных суставов, плоскостопие. При аускультации отмечен систолический шум, ЭХО-КГ не проводилась.

При секвенировании гена *FBNI* у пробанда 3 и ее матери идентифицирована мутация c.7851delC (p.Cys2617Trpfs\*65) в гетерозиготном состоянии в 64-м экзоне (рис. 6).

**Обсуждение.** СМ – мультисистемное заболевание, которое характеризуется патологическими изменениями со стороны органа зрения, сердечно-сосудистой системы (ССС), скелета, кожи, легких и твердой мозговой оболочки. Важнейшим и ранним проявлением СМ является офтальмологическая патология, обусловленная изменением свойств соединительнотканых структур глазного яблока. У пациентов с СМ описаны уплощение роговицы, мегалокорнея, кератоконус, глаукома, ригидность зрачка, гипоплазия и колобома радужной оболочки, эктопия и колобома хрусталика, микросферофакия, катаракта, дегенерация, разрывы и отслойка сетчатки, колобома диска зрительного нерва, истончение склеры и сосудистой оболочки, удлинение переднезадней оси глазного яблока, миопия, астигматизм, амблиопия, косоглазие [11]. Самым частым нарушением остроты зрения у пациентов с СМ является миопия, которая быстро прогрессирует в детском возрасте [12]. Дислокация хрусталика – кардинальный признак СМ, который диагностируют в среднем у 60 % пациентов [11, 12]. В большинстве случаев подвывих хрусталика выявляют у детей младше 10 лет [12]. Однако нередко это осложнение развивается у взрослых на четвер-

той-пятой декаде жизни [13]. Смещение хрусталика при СМ чаще является двусторонним и происходит кверху и темпорально, реже наблюдается подвывих хрусталика в других направлениях, а также вывих в стекловидное тело или переднюю камеру [14]. Отмечена положительная корреляция между наличием эктопии хрусталика и увеличением размеров переднезадней оси глаза, а также степенью выраженности миопии [15].

В литературе представлен широкий спектр разнообразных классификаций дислокаций хрусталика, связанных со слабостью его связочного аппарата. Нами применена классификация Н. П. Паштаева [16], который выделяет 4 степени смещения хрусталика. Коррекция зрения при подвывихе хрусталика может проводиться с помощью очковых или контактных линз. Показаниями к оперативному лечению являются: отсутствие возможности коррекции аметропии, развитие рефракционной амблиопии, смещение хрусталика в стекловидное тело или переднюю камеру глаза, глаукома, увеит, катаракта.

У наших пациентов аномалии зрительного анализатора включали осевую миопию, плоскую роговицу, сублюксацию хрусталика не только кверху и темпорально, но и в переднезаднем направлении, вывих хрусталика в стекловидное тело, сферофакию, гипоплазию радужной оболочки, ригидность зрачка, деструкцию стекловидного тела, катаракту. Во всех случаях миопия высокой степени и подвывих хрусталика были диагностированы в возрасте до 3 лет. У пробандов 2 и 3 на одном глазу был подвывих хрусталика 3-й степени, на другом – подвывих хрусталика 2-й степени. Ленсэктомия была выполнена пациентке 1 и ее брату из-за развития катаракты, пробандам 2 и 3 – вследствие амблиопии и люксации хрусталиков в стекловидное тело. Сублюксированные хрусталики удаляли методом ирригации-аспирации и ленсэктомии с использованием технологии малых разрезов и вискоэластиков через лимбальный доступ. После введения в переднюю камеру 0,1 мл 1 %-ного раствора мезатона и вискоэластика выполняли передний капсулорексис и гидродиссекцию. Витрэктом старались вводить в зоне наибольшего смещения хрусталика, аспирацию вещества хрусталика производили внутри его капсулы, что предотвращало попадание вещества хрусталика в стекловидную полость. Витрэктомом удаляли остатки хрусталиковых масс и капсулы хрусталика в области зрачка. Осложнения после оперативного лечения отмечены только у пациентки 3, у которой развилась деформация радужной оболочки правого глаза.

Коррекция афакии после удаления хрусталика может осуществляться с помощью очковых или контактных линз, возможна также имплантация интраокулярных линз (ИОЛ). Имплантацию ИОЛ осуществляют с помощью склеральной фиксации, ирис-клипс линзы, линзы с радужковой фиксацией, фиксирующих капсулу элементов или путем подшивания внутрикапсульного кольца [3, 17–19]. Вопрос практического использования ИОЛ после ленсэктомии по поводу подвывиха хрусталика у детей является спорным. В большинстве сообщений результаты коррекции с помощью ИОЛ аналогичны таковым при применении очковых или контактных линз, но в то же время имплантация ИОЛ может приводить к осложнениям, требующим повторных внутрикапсульных вмешательств [19]. По нашим данным, использование очков или контактных линз – простой и эффективный метод коррекции афакии после удаления сублюксированных хрусталиков. Так, у двух пациентов было зафиксировано значительное улучшение остроты зрения после ленсэктомии. У пробанда 3 с остротой зрения до операции 0,05 и отсутствием коррекции на следующий день после операции острота зрения с коррекцией составила 0,1, перед выпиской из стационара – 0,5, а в отдаленном периоде – 0,8. У пробанда 2 острота зрения с коррекцией +10Д после удаления хрусталика была равна 0,6 (до операции 0,05, со сфероцилиндрической коррекцией – 0,3). У этого пациента было отмечено быстрое прогрессирование осевой миопии. В связи с этим мальчику была выполнена склероукрепляющая операция на обоих глазах, однако, несмотря на это, переднезадняя ось глаза увеличилась с 24,5 мм (после ленсэктомии) до 29,5 мм. В настоящее время ребенку назначена бифокальная коррекция для дали +4Д, для близи +7Д, что позволило достичь показателя остроты зрения 1,0.

Патология ССС – основная причина заболеваемости и смертности пациентов с СМ [12]. Кардинальным признаком заболевания является расширение аорты, которое констатируют у 60–80 % лиц с СМ [20, 21]. При СМ также описаны: недостаточность аортального клапана, ПМК без

или с митральной регургитацией, пролапс трикуспидального клапана, расширение проксимального отдела легочной артерии, дилатация аорты (у пробандов 1 и 2). Таким образом, поскольку клинические проявления заболевания у этих пациентов полностью удовлетворяли актуальным Гентским критериям, диагноз СМ у них представлялся очевидным. У пробанда 3 в возрасте 17 лет патологии аорты не отмечено, однако обнаружены ПМК с митральной регургитацией и расширение левого желудочка. По сведениям J. J. Aalberts с соавт. [22], расширение левого желудочка наблюдается у 16 % пациентов с СМ и, по-видимому, не ассоциируется с существенным ухудшением сократительной функции сердца [23]. У пациентки 3 фракция выброса также была сохранена. В отсутствие расширения аорты и результатов молекулярно-генетического исследования на основании клинических проявлений данный случай можно отнести к синдрому эктопии хрусталиков.

Развитие характерных клинических проявлений СМ обусловлено изменением количества и структуры белка фибриллина-1 вследствие мутаций в гене *FBNI*, картированного на длинном плече хромосомы 15 в сегменте q21.1. Это один из самых крупных генов человека: его полная копия включает 66 экзонов [24]. В открытых базах данных и доступных авторам источниках литературы в гене *FBNI* описано более 3000 патогенных, вероятно патогенных мутаций и вариантов с неопределенной клинической значимостью [25]. Продукт гена – белок фибриллин-1 представляет собой крупный кальций-связывающий гликопротеин массой 350 кДа, который формирует в экстрацеллюлярном матриксе микрофибриллы диаметром 10–12 нм [26]. В коже, кровеносных сосудах, легких эти микрофибриллы располагаются на периферии эластических волокон, формируя своего рода каркас для эластина. В сухожилиях, роговице, клубочках почек, связке, поддерживающей хрусталик, микрофибриллы не связаны с эластином и обеспечивают фиксацию и растяжимость этих анатомических структур. Микрофибриллы участвуют в поддержании гомеостаза соединительной ткани благодаря взаимодействиям с ростовыми факторами, такими как морфогенетические белки костей, факторы роста и дифференцировки, латентные белки, связывающие трансформирующий фактор роста  $\beta$  и т. д. Молекула фибриллина-1 образована повторяющимися доменами разных типов, отличающимися по своей структуре и функциям, а именно: EGF-like (epidermal growth factor-like, всего 4), cbEGF-like (calcium-binding EGF, всего 43), TB (TGF $\beta$ -binding protein-like, всего 7) и гибридные домены (hybrid, всего 2). Кроме того, имеются N- и C-терминальные пропептиды (propeptides), домен FUN (fibrillin unique N-terminus), мотив 2-Cys и пролинобогатый участок [26]. Сорок семь экзонов гена *FBNI* кодируют синтез EGF-like и cbEGF-like доменов, каждый из которых состоит из 40–50 остатков аминокислот. СbEGF-like домены содержат консенсусную последовательность, обеспечивающую связывание ионов кальция, а следовательно, и конформационную стабильность домена и устойчивость молекулы фибриллина-1 к протеолитическому расщеплению. В составе EGF-like и cbEGF-like доменов всегда присутствуют 6 высококонсервативных остатков цистеина, образующих три дисульфидных мостика в положениях 1–3, 2–4 и 5–6. Поперечные дисульфидные связи стабилизируют структуру доменов и усиливают связывание ионов кальция. Миссенс-мутации, затрагивающие остатки цистеина в cbEGF-like доменах, подобные тем, что обнаружены нами у пробандов 1 и 2, в соответствии с Гентской классификацией расцениваются как патогенные [8]. Такие мутации являются наиболее частой причиной СМ: на их долю приходится не менее 25 % от всех мутантных аллелей гена [27]. Замены аминокислот относят к мутациям с доминантно-негативным эффектом. Термин «доминантно-негативный эффект» описывает ситуацию, при которой молекулы белка с аномальной структурой, взаимодействуя с правильно организованным фибриллином-1, нарушают его функции [28]. Врожденное смещение хрусталика наблюдается у 52–86 % носителей мутаций с доминантно-негативным эффектом [27, 29] и является весьма характерным проявлением таких изменений гена *FBNI* [30]. Стабильные мутантные формы фибриллина-1 могут частично сохранять нормальные функции, что определяет менее тяжелое поражение ССС и скелета у носителей миссенс-мутаций [27, 31].

Экзон 16 кодирует синтез шестого cbEGF-like домена, дисульфидные связи в этом домене располагаются в позициях 617–628 623–637 639–652. Мутация с.1884C>G сопровождается замещением остатка цистеина в положении 628 на триптофан (p. Cys628Trp, C3, связь 1–3).

В открытых базах в этом кодоне зарегистрированы мутации с.1883G>A (p.Cys628Tyr), с.1883G>T (p.Cys628Phe) [32], с.1884C>A (p.Cys628X) [14]. Замена p.Cys628Tyr впервые упоминается D. O. Robinson с соавт. [33] и выявлена у нескольких пациентов, остальные мутации представлены единичными наблюдениями. На основании установленных клинических проявлений заболевания у обследованных нами сибсов можно сделать вывод, что при мутации в кодоне 628 внешние признаки СМ выражены умеренно, а характерные дисморфии у пациентов, как правило, отсутствуют. При этом смещение хрусталика развивается в раннем возрасте, а также может иметь место медленно прогрессирующее расширение аорты.

Экзон 21 кодирует девятый cbEGF-like домен. В этом домене дисульфидные связи формируются между остатками аминокислот в положениях 811–821, 816–830, 832–845. Выявленная у пробанда 2 мутация с.2461T>A приводит к замене цистеина на серин в позиции 821 (p.Cys821Ser, C3), что нарушает формирование связи 1–3. Ранее в кодоне 821 были обнаружены замены с.2462G>A (p.Cys821Tyr) [34, 35], с.2463C>G (p.Cys821Trp) [32] и с.2463C>A (p.Cys821X) [36]. У всех обследованных пациентов, как и в нашем случае, отмечалось смещение хрусталика и расширение аорты, т. е. клинические проявления заболевания удовлетворяли Гентским критериям. У носителя мутации p.Cys821Tyr, по сведениям, опубликованным С. С. Hung с соавт., не обнаружено изменений со стороны скелета. При мутации p.Cys821Trp в клинической картине болезни преобладали симптомы поражения ССС. Таким образом, можно прийти к заключению, что миссенс-мутации в кодоне 821 приводят к развитию классического фенотипа СМ с ранней манифестацией симптомов и быстрым прогрессированием кардиологической патологии. Другие авторы также отмечали, что замены аминокислот в средней трети гена *FBNI* (20–40-й экзоны) ассоциируются с более тяжелыми клиническими проявлениями СМ по сравнению с миссенс-мутациями экзонов 1–15 и 57–65 [37].

Экзон 64 кодирует 42-й и 43-й cbEGF-like домены. Дисульфидные связи в домене 42 расположены в позициях 2611–2622, 2617–2631, 2633–2646. Обнаруженная у пробанда 3 однонуклеотидная делеция с.7851delC сопровождается замещением остатка цистеина на триптофан в положении 2617, что нарушает формирование связи 2–4 и приводит к образованию преждевременного стоп-кодона в положении 2682. В открытых базах данных в этом кодоне зарегистрированы две уникальные замены – с.7851C>G (p.Cys2617Trp) [38] и с.7850G>A (p.Cys2617Tyr) [32]. Основным патогенетическим механизмом, через который реализуется патологическое действие мутаций, приводящих к образованию преждевременного стоп-кодона в гене *FBNI*, является гаплонедостаточность (дефицит) фибриллина-1. СМ, обусловленный дефицитом последнего, характеризуется более тяжелым течением с преимущественным поражением скелета (100 % случаев) и ССС (95 % случаев) [27]. Вероятность расслоения аорты и гибели вследствие поражения ССС у таких пациентов в 2,5 раза выше, чем у носителей мутаций с доминантно-негативным эффектом [39]. Расширение левого желудочка, которое отмечено нами у пробанда 3, также чаще выявляют у пациентов с гаплонедостаточностью фибриллина-1 [22]. Подвывих хрусталика, напротив, при мутациях, сопровождающихся образованием преждевременного стоп-кодона, встречается в 2,5 раза реже, чем при мутациях с доминантно-негативным эффектом [27]. В связи с высокой частотой расширения аорты у носителей мутаций, ассоциированных с истинным дефицитом фибриллина-1, и с учетом результатов молекулярно-генетического исследования мы сочли необходимым изменить диагноз пробанду 3 с синдрома эктопии хрусталиков на СМ. Авторы Гентских критериев рекомендуют у пациентов в возрасте моложе 20 лет с нормальным диаметром аорты в случаях обнаружения мутаций в гене *FBNI*, связь которых с развитием расширения аорты установлена недостоверно, использовать диагноз «потенциальный синдром Марфана». Такая рекомендация, по-видимому, обусловлена тем, что у 70 % пациентов с СМ расширение аорты становится очевидным к 20 годам [40]. В соответствии с Гентской классификацией после достижения пациентом возраста 20 лет диагноз «потенциальный синдром Марфана» должен быть пересмотрен и установлен либо СМ (у лиц с дилатацией аорты), либо синдром эктопии хрусталика (при нормальных размерах аорты). Такой подход представляется нам спорным, поскольку известно, что при СМ расширение аорты может возникать в любом возрасте [24], а кроме того, диагноз синдрома эктопии хрусталика может снизить настороженность врачей в отношении

вероятности развития угрожающих жизни осложнений со стороны ССС. Поэтому при наличии мутаций, ассоциированных с гаплонедостаточностью фибриллина-1, считаем необходимым классифицировать случаи заболевания как СМ.

Несмотря на то что СМ является относительно распространенным и хорошо изученным наследственным заболеванием, специфическое лечение для этой патологии не разработано. Показано, что назначение бета-блокаторов и антагонистов рецепторов ангиотензина II замедляет прогрессирование расширения аорты, уменьшает вероятность диссекции аорты и ранней смерти пациентов [41]. Терапия бета-блокаторами показана всем пациентам с СМ с момента установления диагноза [42, 43]. Однако в действительности такое лечение редко назначается пациентам с СМ, даже при наличии патологии аорты. Среди описанных случаев бета-блокаторы в связи с суправентрикулярной аритмией получал лишь один взрослый, при этом диаметр аорты у него, в отличие от его сестры, которой лечение не проводилось, действительно не был увеличен. При этом у 3 из 5 наших пациентов клинические проявления заболевания удовлетворяли Гентским критериям, а их клинический диагноз до получения результатов молекулярно-генетического исследования не вызывал сомнений. В 2016 г. было показано, что эффективность лекарственной терапии при СМ зависит от генотипа: применение лозартана с целью профилактики прогрессирования расширения аорты оказалось эффективным у лиц с гаплонедостаточностью фибриллина-1. У пациентов с «доминантно-негативными» мутациями, напротив, протективный эффект препарата не выявлен [44]. На основании этих сведений нашим пациентам были даны дифференцированные рекомендации относительно медикаментозной профилактики формирования аневризмы и разрыва аорты: пробандам 1, 2 были рекомендованы бета-блокаторы, пробанду 3 – антагонисты рецепторов ангиотензина II.

**Заключение.** У пациентов с врожденным смещением хрусталика, обусловленным СМ, в 16, 21 и 64-м экзонах гена *FBNI* нами обнаружены три новые, не описанные ранее в литературе мутации, которые в соответствии с Гентскими критериями пересмотра 2010 г. расценены как патогенные. Нами уточнен спектр клинических проявлений СМ, характерный для выявленных мутаций и на основании молекулярно-генетических исследований проведена коррекция лекарственной терапии в соответствии с уточненным клиническим диагнозом.

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

#### Список использованных источников

1. Эпидемиология детской близорукости в Республике Беларусь / О. Л. Поболь-Солонко [и др.] // Современная реконструктивная хирургия в офтальмологии : материалы респ. науч. конф. с междунар. участием, 13–14 дек. 2013 г., г. Минск / Белорус. мед. акад. последиплом. образования. – Минск, 2013. – С. 231–235.
2. Ермолаев, А. В. Социологическое обоснование комплекса мероприятий по профилактике глазной патологии у детей (по материалам г. Астрахани) : дис. ... канд. мед. наук : 14.00.52 / А. В. Ермолаев. – Волгоград, 2004. – 182 с.
3. Хирургическое лечение эктопии хрусталика у детей / М. Е. Коновалов [и др.] // Вестн. Тамбов. ун-та. Сер. Естеств. и техн. науки. – 2014. – Т. 19, № 4. – С. 1149–1151.
4. Грабовецкий, В. Р. Врожденные нарушения капсульно-связочного комплекса глаза / В. Р. Грабовецкий, А. И. Титаренко, С. С. Папанян // Офтальмол. ведомости. – 2016. – Т. 9, № 2. – С. 45–51.
5. NGS panel analysis in 24 ectopia lentis patients; a clinically relevant test with a high diagnostic yield / E. Overwater [et al.] // Eur. J. Med. Genet. – 2017. – Vol. 60, N 9. – P. 465–473. <https://doi.org/10.1016/j.ejmg.2017.06.005>
6. Mutation survey of candidate genes in 40 Chinese patients with congenital ectopia lentis / J. Li [et al.] // Mol. Vis. – 2014. – Vol. 20. – P. 1017–1024.
7. Marfan syndrome caused by a recurrent *de novo* missense mutation in the fibrillin gene / H. C. Dietz [et al.] // Nature. – 1991. – Vol. 352, N 6333. – P. 337–339. <https://doi.org/10.1038/352337a0>
8. The revised Ghent nosology for the Marfan syndrome / B. L. Loeys [et al.] // J. Med. Genet. – 2010. – Vol. 47, N 7. – P. 476–485. <https://doi.org/10.1136/jmg.2009.072785>
9. Aljanabi, S. M. Universal and rapid salt-extraction of high quality genomic DNA for PCR-based techniques / S. M. Aljanabi, I. Martinez // Nucl. Acids Res. – 1997. – Vol. 25, N 22. – P. 4692–4693. <https://doi.org/10.1093/nar/25.22.4692>
10. Fifteen novel FBNI mutations causing Marfan syndrome detected by heteroduplex analysis of genomic amplicons / G. Nijbroek [et al.] // Am. J. Hum. Genet. – 1995. – Vol. 57, N 1. – P. 8–21.
11. Current concepts of ocular manifestations in marfan syndrome / A. Y. Nemet [et al.] // Survey Ophthalmol. – 2006. – Vol. 51, N 6. – P. 561–575. <https://doi.org/10.1016/j.survophthal.2006.08.008>
12. Tinkle, B. T. Health supervision for children with Marfan syndrome / B. T. Tinkle, H. M. Saal // Pediatrics. – 2013. – Vol. 132, N 4. – P. e1059–e1072. <https://doi.org/10.1542/peds.2013-2063>

13. Prevalence of ectopia lentis and retinal detachment in Marfan syndrome / A. Chandra [et al.] // *Acta Ophthalmologica*. – 2014. – Vol. 92, N 1. – P. e82–e83. <https://doi.org/10.1111/aos.12175>
14. Management strategies of ocular abnormalities in patients with Marfan syndrome: current perspective / H. Esfandiari [et al.] // *Ophthalmic Vis. Res.* – 2019. – Vol. 14, N 1. – P. 71–77. [https://doi.org/10.4103/jovr.jovr\\_29\\_18](https://doi.org/10.4103/jovr.jovr_29_18)
15. Salchow, D. J. Ocular manifestations of Marfan syndrome in children and adolescents / D. J. Salchow, P. Gehle // *Eur. J. Ophthalmol.* – 2018. – Vol. 29, N 1. – P. 38–43. <https://doi.org/10.1177/1120672118761333>
16. Паштаев Н. П. Классификация дислокации хрусталика, современная тактика лечения / Н. П. Паштаев // *Актуальные проблемы хирургии хрусталика, стекловидного тела и сетчатки* : сб. науч. тр. / под ред. С. Н. Федорова. – М., 1986. – С. 34–37.
17. Боброва, Н. Ф. Особенности клиники и хирургического удаления сублюксированных хрусталиков при синдроме Марфана / Н. Ф. Боброва, А. Н. Хмарук, Т. Е. Пашегор // *Офтальмол. журн.* – 2001. – № 4. – С. 27–33.
18. Круглова, Т. А. Наш опыт хирургии дислоцированного хрусталика и имплантации заднекамерной ИОЛ с использованием внутрикапсульного кольца у детей с синдромом Марфана / Т. А. Круглова, Н. С. Егиян // *Рос. общенац. офтальмол. форум.* – 2018. – Т. 1. – С. 73–75.
19. Хойт, К. С. *Детская офтальмология* : в 2 т. / К. С. Хойт, Д. Тэйлор ; пер. с англ. К. С. Турко. – М. : Изд-во Панфилова, 2015. – Т. 1. – 653 с.
20. Stuart, A. G. Marfan's syndrome and the heart / A. G. Stuart, A. Williams // *Arch. Dis. Child.* – 2007. – Vol. 92, N 4. – P. 351–356. <https://doi.org/10.1136/adc.2006.097469>
21. Differences in cardiovascular manifestation of Marfan syndrome between children and adults / L. Wozniak-Mielczarek [et al.] // *Pediatr. Cardiol.* – 2019. – Vol. 40, N 2. – P. 393–403. <https://doi.org/10.1007/s00246-018-2025-2>
22. Relation between genotype and left-ventricular dilatation in patients with Marfan syndrome / J. J. Aalberts [et al.] // *Gene.* – 2014. – Vol. 534, N 1. – P. 40–43. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2013.10.033>
23. Ventricular-vascular coupling in Marfan and non-Marfan aortopathies / F. Loeper [et al.] // *J. Am. Heart Assoc.* – 2016. – Vol. 5, N 11. – P. e003705. <https://doi.org/10.1161/JAHA.116.003705>
24. Marfan syndrome: current perspectives / G. Pepe [et al.] // *Appl. Clin. Genet.* – 2016. – Vol. 9. – P. 55–65. <https://doi.org/10.2147/TACG.S96233>
25. Update of the UMD-*FBN1* mutation database and creation of an *FBN1* polymorphism database / G. Collod-Bérout [et al.] // *Hum. Mutat.* – 2003. – Vol. 22, N 3. – P. 199–208. <https://doi.org/10.1002/humu.10249>
26. Jensen, S. A. New insights into the structure, assembly and biological roles of 10–12 nm connective tissue microfibrils from fibrillin-1 studies / S. A. Jensen, P. A. Handford // *Biochem. J.* – 2016. – Vol. 473, N 7. – P. 827–838. <https://doi.org/10.1042/BJ20151108>
27. Diagnosis and genetics of Marfan syndrome / R. Franken [et al.] // *Expert Opin. Orphan Drugs.* – 2014. – Vol. 2, N 10. – P. 1049–1062. <https://doi.org/10.1517/21678707.2014.950223>
28. Four novel *FBN1* mutations: significance for mutant transcript level and EGF-like domain calcium binding in the pathogenesis of Marfan syndrome / H. C. Dietz [et al.] // *Genomics.* – 1993. – Vol. 17, N 2. – P. 468–475. <https://doi.org/10.1006/geno.1993.1349>
29. Premature termination mutations in *FBN1*: distinct effects on differential allelic expression and on protein and clinical phenotypes / I. Schrijver [et al.] // *Am. J. Hum. Genet.* – 2002. – Vol. 71, N 2. – P. 223–237. <https://doi.org/10.1086/341581>
30. The importance of mutation detection in Marfan syndrome and Marfan-related disorders: report of 193 *FBN1* mutations / P. Comoglio [et al.] // *Hum. Mutat.* – 2007. – Vol. 28, N 9. – P. 928. <https://doi.org/10.1002/humu.9505>
31. TGGE screening of the entire *FBN1* coding sequence in 126 individuals with Marfan syndrome and related fibrillinopathies / St. Katzke [et al.] // *Hum. Mutat.* – 2002. – Vol. 20, N 3. – P. 197–208. <https://doi.org/10.1002/humu.10112>
32. National Center for Biotechnology Information. ClinVar; [*FBN1*[gene]] [Electronic resource]. – Mode of access : [https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/?term=FBN1\[gene\]](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/?term=FBN1[gene]). – Date of access : 17.10.2019.
33. Systematic screening of *FBN1* gene unclassified missense variants for splice abnormalities / D. O. Robinson [et al.] // *Clin. Genet.* – 2012. – Vol. 82, N 3. – P. 223–231. <https://doi.org/10.1111/j.1399-0004.2011.01781.x>
34. Two novel mutations of *FBN1* gene in the patients with MFS among Han population / Q.-Q. Chen [et al.] // *Hereditas (Beijing).* – 2010. – Vol. 32, N 1. – P. 49–53. <https://doi.org/10.3724/sp.j.1005.2010.00049>
35. Mutation spectrum of the fibrillin-1 (*FBN1*) gene in Taiwanese patients with Marfan syndrome / C.-C. Hung [et al.] // *Ann. Hum. Genet.* – 2009. – Vol. 73, N 6. – P. 559–567. <https://doi.org/10.1111/j.1469-1809.2009.00545.x>
36. Identification of the minimal combination of clinical features in probands for efficient mutation detection in the *FBN1* gene / C. Stheneur [et al.] // *Eur. J. Hum. Genet.* – 2009. – Vol. 17, N 9. – P. 1121–1128. <https://doi.org/10.1038/ejhg.2009.36>
37. Detection of 53 *FBN1* mutations (41 novel and 12 recurrent) and genotype–phenotype correlations in 113 unrelated probands referred with Marfan syndrome, or a related fibrillinopathy / C. L. S. Turner [et al.] // *Am. J. Med. Genet. Part A.* – 2009. – Vol. 149A, N 2. – P. 161–170. <https://doi.org/10.1002/ajmg.a.32593>
38. Update of the UMD-*FBN1* mutation database and creation of an *FBN1* polymorphism database / G. Collod-Bérout [et al.] // *Hum. Mutat.* – 2003. – Vol. 22, N 3. – P. 199–208. <https://doi.org/10.1002/humu.10249>
39. Genotype impacts survival in Marfan syndrome / R. Franken [et al.] // *Eur. Heart J.* – 2016. – Vol. 37, N 43. – P. 3285–3290. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehv739>
40. Aburawi, E. H. Relation of aortic root dilatation and age in Marfan's syndrome / E. H. Aburawi, J. O'Sullivan // *Eur. Heart J.* – 2007. – Vol. 28, N 3. – P. 376–379. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehl457>
41. Lindeman, J. H. Pharmacologic management of aneurysms / J. H. Lindeman, J. S. Matsumura // *Circ. Res.* – 2019. – Vol. 124, N 4. – P. 631–646. <https://doi.org/10.1161/circresaha.118.312439>

42. ACCF/AHA/AATS/ACR/ASA/SCA/SCAI/SIR/STS/SVM guidelines for the diagnosis and management of patients with thoracic aortic disease: a report of the American College of Cardiology Foundation/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines, American Association for Thoracic Surgery, American College of Radiology, American Stroke Association, Society of Cardiovascular Anesthesiologists, Society for Cardiovascular Angiography and Interventions, Society of Interventional Radiology, Society of Thoracic Surgeons, and Society for Vascular Medicine / L. F. Hiratzka [et al.] // *Circulation*. – 2010. – Vol. 121, N 13. – P. e266–e369. <https://doi.org/10.1161/cir.0b013e3181d4739e>

43. Наследуемые аневризмы и расслоения грудной аорты. Наднациональные (международные) рекомендации / подгот. : А. С. Рудой (пред.) [и др.]. – Минск : Проф. изд., 2016. – С. 56.

44. Beneficial outcome of losartan therapy depends on type of FBNI mutation in Marfan syndrome / R. Franken [et al.] // *Circ.: Cardiovasc. Genet.* – 2015. – Vol. 8, N 2. – P. 383–388. <https://doi.org/10.1161/CIRCGENETICS.114.000950>

## References

1. Pobol'-Solonko O. L., Marchenko L. N., Ivanova V. F., Dalidovich A. A. Epidemiology of children's myopia in Republic of Belarus. *Sovremennaya rekonstruktivnaya khirurgiya v oftal'mologii: materialy respublikanskoi nauchnoi konferentsii s mezhdunarodnym uchastiem (13–14 dekabrya 2013 goda, Minsk)* [Modern reconstructive surgery in ophthalmology: materials of a republican scientific conference with international participation (December 13–14, 2013, Minsk)]. Minsk, 2013, pp. 231–235 (in Russian).

2. Ermolaev A. V. *Sociological substantiation of a set of measures for the prevention of ocular pathology in children (based on materials from Astrakhan)*. Ph. D. Thesis. Volgograd, 2004. 182 p. (in Russian).

3. Konovalov M. E., Kozhukhov A. A., Zenina M. L., Gorenskii A. A. Surgical treatment of ectopia lens in children. *Vestnik Tambovskogo universiteta. Seriya Estestvennye i tekhnicheskie nauki = Tambov University Reports. Series: Natural and Technical Sciences*, 2014, vol. 19, no. 4, pp. 1149–1151 (in Russian).

4. Grabovetskii V. R., Titarenko A. I., Papanyan S. S. Congenital disorders of the capsule-ligament complex of the eye. *Oftal'mologicheskie vedomosti = Ophthalmology journal*, 2016, vol. 9, no. 2, pp. 45–51 (in Russian).

5. Overwater E., Floor K., van Beek D., de Boer K., van Dijk T., Hilhorst-Hofstee Y. [et al.]. NGS panel analysis in 24 ectopia lentis patients; a clinically relevant test with a high diagnostic yield. *European Journal of Medical Genetics*, 2017, vol. 60, no. 9, pp. 465–473. <https://doi.org/10.1016/j.ejmg.2017.06.005>

6. Li J., Jia X., Li S., Fang S., Guo X. Mutation survey of candidate genes in 40 Chinese patients with congenital ectopia lentis. *Molecular Vision*, 2014, vol. 20, pp. 1017–1024.

7. Dietz H. C., Cutting G. R., Pyeritz R. E., Maslen C. L., Sakai L. Y., Corson G. M. [et al.]. Marfan syndrome caused by a recurrent de novo missense mutation in the fibrillin gene. *Nature*, 1991, vol. 352, no. 6333, pp. 337–339. <https://doi.org/10.1038/352337a0>

8. Loeyts B. L., Dietz H. C., Braverman A. C., Callewaert B. L., de Backer J., Devereux R. B. [et al.]. The revised Ghent nosology for the Marfan syndrome. *Journal of Medical Genetics*, 2010, vol. 47, no. 7, pp. 476–485. <https://doi.org/10.1136/jmg.2009.072785>

9. Aljanabi S. M., Martinez I. Universal and rapid salt-extraction of high quality genomic DNA for PCR-based techniques. *Nucleic Acids Research*, 1997, vol. 25, no. 22, pp. 4692–4693. <https://doi.org/10.1093/nar/25.22.4692>

10. Nijbroek G., Sood S., McIntosh L., Francomano Cl. A., Bull E., Pereira L., Ramirez Fr., Pyeritz R. E., Dietz H. C. Fifteen novel FBNI mutations causing Marfan syndrome detected by heteroduplex analysis of genomic amplicons. *American Journal of Human Genetics*, 1995, vol. 57, no. 1, pp. 8–21.

11. Nemet A. Y., Assia E. I., Apple D. J., Barequet I. S. Current concepts of ocular manifestations in Marfan syndrome. *Survey of Ophthalmology*, 2006, vol. 51, no. 6, pp. 561–575. <https://doi.org/10.1016/j.survophthal.2006.08.008>

12. Tinkle B. T., Saal H. M. Health supervision for children with Marfan syndrome. *Pediatrics*, 2013, vol. 132, no. 4, pp. e1059–e1072. <https://doi.org/10.1542/peds.2013-2063>

13. Chandra A., Ekwalla V., Child A., Charteris D. Prevalence of ectopia lentis and retinal detachment in Marfan syndrome. *Acta Ophthalmologica*, 2014, vol. 92, no. 1, pp. e82–e83. <https://doi.org/10.1111/aos.12175>

14. Esfandiari H., Ansari Sh., Mohammad-Rabei H., Mets M. B. Management strategies of ocular abnormalities in patients with Marfan syndrome: current perspective. *Journal of Ophthalmic and Vision Research*, 2019, vol. 14, no. 1, pp. 71–77. [https://doi.org/10.4103/jovr.jovr\\_29\\_18](https://doi.org/10.4103/jovr.jovr_29_18).

15. Salchow D. J., Gehle P. Ocular manifestations of Marfan syndrome in children and adolescents. *European Journal of Ophthalmology*, 2018, vol. 29, no. 1, pp. 38–43. <https://doi.org/10.1177/1120672118761333>

16. Pashtaev N. P. Classification of lens dislocations, modern treatment tactics. *Aktual'nye problemy khirurgii khrustalika, steklovidnogo tela i setchatki: sbornik nauchnykh trudov* [Actual problems of surgery of the lens, vitreous body and retina: a collection of scientific papers]. Moscow, 1986, pp. 34–37 (in Russian).

17. Bobrova N. F., Khmaruk A. N., Pashegor T. E. Clinical features and surgical removal of subluxated lenses in Marfan syndrome. *Oftal'mologicheskie vedomosti = Ophthalmology journal*, 2001, no. 4, pp. 27–33 (in Russian).

18. Kruglova T. A., Egiyan N. S. Our experience with surgery for the dislocated lens and the posterior chamber IOL implantation using the intracapsular ring in children with Marfan syndrome. *Rossiiskii obshchenatsional'nyi oftal'mologicheskii forum* [Russian national ophthalmological forum], 2018, vol. 1, pp. 73–75 (in Russian).

19. Hoyt C. S., Taylor D. *Pediatric ophthalmology and strabismus. 4th ed.* London, Elsevier, 2013. 1168 p. (Russ. ed.: Khoit K. S., Teilor D. *Detskaya oftal'mologiya. Tom 1.* Moskva, Izdatel'stvo Panfilova Publ., 2015. 653 p.).

20. Stuart A. G., Williams A. Marfan's syndrome and the heart. *Archives of Disease in Childhood*, 2007, vol. 92, no. 4, pp. 351–356. <https://doi.org/10.1136/adc.2006.097469>
21. Wozniak-Mielczarek L., Sabiniewicz R., Drezek-Nojowicz M., Nowak R., Gilis-Malinowska N., Mielczarek M., Łabuc A., Waldoch A., Wierzbica J. Differences in cardiovascular manifestation of Marfan syndrome between children and adults. *Pediatric Cardiology*, 2019, vol. 40, no. 2, pp. 393–403. <https://doi.org/10.1007/s00246-018-2025-2>
22. Aalberts J. J., van Tintelen J. P., Meijboom L. J., Polko A., Jongbloed J. D., van der Wal H. [et al.]. Relation between genotype and left-ventricular dilatation in patients with Marfan syndrome. *Gene*, 2014, vol. 534, no. 1, pp. 40–43. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2013.10.033>
23. Loeper F., Oosterhof J., van den Dorpel M., van der Linde D., Lu Y., Robertson E., Hambly B., Jeremy R. Ventricular-vascular coupling in Marfan and non-Marfan aortopathies. *Journal of the American Heart Association*, 2016, vol. 5, no. 11, p. e003705. <https://doi.org/10.1161/JAHA.116.003705>
24. Pepe G., Giusti B., Sticchi E., Abbate R., Gensini G. Fr., Nistri S. Marfan syndrome: current perspectives. *Application of Clinical Genetics*, 2016, vol. 9, pp. 55–65. <https://doi.org/10.2147/TACG.S96233>
25. Collod-Bérout G., le Bourdelles S., Ades L., Ala-Kokko L., Booms P., Boxer M. [et al.]. Update of the UMD-*FBNI* mutation database and creation of an *FBNI* polymorphism database. *Human Mutation*, 2003, vol. 22, no. 3, pp. 199–208. <https://doi.org/10.1002/humu.10249>
26. Jensen S. A., Handford P. A. New insights into the structure, assembly and biological roles of 10–12 nm connective tissue microfibrils from fibrillin-1 studies. *Biochemical Journal*, 2016, vol. 473, no. 7, pp. 827–838. <https://doi.org/10.1042/BJ20151108>
27. Franken R., Heesterbeek Th. J., de Waard V., Zwinderman A. H., Pals G., Mulder B. J. M., Groenink M. Diagnosis and genetics of Marfan syndrome. *Expert Opinion on Orphan Drugs*, 2014, vol. 2, no. 10, pp. 1049–1062. <https://doi.org/10.1517/21678707.2014.950223>
28. Dietz H. C., McIntosh I., Sakai L. Y., Corson G. M., Chalberg S. C., Pyeritz R. E., Francomano C. A. Four novel *FBNI* mutations: significance for mutant transcript level and EGF-like domain calcium binding in the pathogenesis of Marfan syndrome. *Genomics*, 1993, vol. 17, no. 2, pp. 468–475. <https://doi.org/10.1006/geno.1993.1349>
29. Schrijver I., Liu W., Odom R., Brenn T., Oefner P., Furthmayr H., Francke U. Premature termination mutations in *FBNI*: distinct effects on differential allelic expression and on protein and clinical phenotypes. *American Journal of Human Genetics*, 2002, vol. 71, no. 2, pp. 223–237. <https://doi.org/10.1086/341581>
30. Comeglio P., Johnson Ph., Arno G., Brice G., Evans A., Aragon-Martin J., Pereira da Silva F., Kiotsekoglou A., Child A. The importance of mutation detection in Marfan syndrome and Marfan-related disorders: report of 193 *FBNI* mutations. *Human Mutation*, 2007, vol. 28, no. 9, p. 928. <https://doi.org/10.1002/humu.9505>
31. Katzke St., Booms P., Tietze Fr., Palz M., Pletschacher A., Türkmen S. [et al.]. TGGE screening of the entire *FBNI* coding sequence in 126 individuals with Marfan syndrome and related fibrillinopathies. *Human Mutation*, 2002, vol. 20, no. 3, pp. 197–208. <https://doi.org/10.1002/humu.10112>
32. National Center for Biotechnology Information. *ClinVar*; [*FBNI*[gene]]. Available at: [https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/?term=FBNI\[gene\]](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/?term=FBNI[gene]) (accessed 17.10.2019).
33. Robinson D. O., Lin F., Lyon M., Raponi M., Cross E., White H. E., Cox H., Clayton-Smith J., Baralle D. Systematic screening of *FBNI* gene unclassified missense variants for splice abnormalities. *Clinical Genetics*, 2012, vol. 82, no. 3, pp. 223–231. <https://doi.org/10.1111/j.1399-0004.2011.01781.x>
34. Chen Q.-Q., Wu Y.-A., Huang X.-L., Chen T., Huang Y., Chen F.-L., Chen F.-W. Two novel mutations of *FBNI* gene in the patients with MFS among Han population. *Hereditas (Beijing)*, 2010, vol. 32, no. 1, pp. 49–53. <https://doi.org/10.3724/sp.j.1005.2010.00049>
35. Hung C.-C., Lin S.-Y., Lee C.-N., Cheng H.-Y., Lin S.-P., Chen M.-R. [et al.]. Mutation spectrum of the fibrillin-1 (*FBNI*) gene in Taiwanese patients with Marfan syndrome. *Annals of Human Genetics*, 2009, vol. 73, no. 6, pp. 559–567. <https://doi.org/10.1111/j.1469-1809.2009.00545.x>
36. Stheneur C., Collod-Bérout G., Faivre L., Buyck J. F., Gouya L., Le Parc J. M. [et al.]. Identification of the minimal combination of clinical features in probands for efficient mutation detection in the *FBNI* gene. *European Journal of Human Genetics*, 2009, vol. 17, no. 9, pp. 1121–1128. <https://doi.org/10.1038/ejhg.2009.36>
37. Turner C. L. S., Emery H., Collins A. L., Howarth R. J., Yearwood C. M., Cross E., Duncan P. J., Bunyan D. J., Harvey J. F., Foulds N. C. Detection of 53 *FBNI* mutations (41 novel and 12 recurrent) and genotype–phenotype correlations in 113 unrelated probands referred with Marfan syndrome, or a related fibrillinopathy. *American Journal of Medical Genetics. Part A*, 2009, vol. 149A, no. 2, pp. 161–170. <https://doi.org/10.1002/ajmg.a.32593>
38. Collod-Bérout G., Le Bourdelles S., Ades L., Ala-Kokko L., Booms P., Boxer M. [et al.]. Update of the UMD-*FBNI* mutation database and creation of an *FBNI* polymorphism database. *Human Mutation*, 2003, vol. 22, no. 3, pp. 199–208. <https://doi.org/10.1002/humu.10249>
39. Franken R., Groenink M., de Waard V., Feenstra H. M. A., Scholte A. J., van den Berg M. P., Pals G., Zwinderman A. H., Timmermans J., Mulder B. J. M. Genotype impacts survival in Marfan syndrome. *European Heart Journal*, 2016, vol. 37, no. 43, pp. 3285–3290. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehv739>
40. Aburawi E. H., O'Sullivan J. Relation of aortic root dilatation and age in Marfan's syndrome. *European Heart Journal*, 2007, vol. 28, no. 3, pp. 376–379. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehl457>
41. Lindeman J. H., Matsumura J. S. Pharmacologic management of aneurysms. *Circulation Research*, 2019, vol. 124, no. 4, pp. 631–646. <https://doi.org/10.1161/circresaha.118.312439>
42. Hiratzka L. F., Bakris G. L., Beckman J. A., Bersin R. M., Carr V. F., Casey De Jr. [et al.]. ACCF/AHA/AATS/ACR/ASA/SCA/SCAI/SIR/STS/SVM guidelines for the diagnosis and management of patients with thoracic aortic disease: a report

of the American College of Cardiology Foundation/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines, American Association for Thoracic Surgery, American College of Radiology, American Stroke Association, Society of Cardiovascular Anesthesiologists, Society for Cardiovascular Angiography and Interventions, Society of Interventional Radiology, Society of Thoracic Surgeons, and Society for Vascular Medicine. *Circulation*, 2010, vol. 121, no. 13, pp. e266–e369. <https://doi.org/10.1161/cir.0b013e3181d4739e>

43. Arutyunov A. G., Vertinskii E. A., Kozlovskii V. I., Letkovskaya T. A., Luneva E. B., Lysyi Yu. S. *Inherited aneurysms and thoracic aortic dissection. Supranational (international) recommendations*. Minsk, Professional'nye izdaniya Publ., 2016, p. 56 (in Russian).

44. Franken R., den Hartog A. W., Radonic T., Micha D., Maugeri A., van Dijk F. S. [et al.]. Beneficial outcome of losartan therapy depends on type of *FBNI* mutation in Marfan syndrome. *Circulation: Cardiovascular Genetics*, 2015, vol. 8, no. 2, pp. 383–388. <https://doi.org/10.1161/CIRCGENETICS.114.000950>

### Информация об авторах

*Гусина Ася Александровна* – канд. мед. наук, вед. науч. сотрудник. Республиканский научно-практический центр «Мать и дитя» (ул. Орловская, 66, 220053, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: [asya.gusina@mail.ru](mailto:asya.gusina@mail.ru)

*Сталыбко Анастасия Сергеевна* – мл. науч. сотрудник. Республиканский научно-практический центр «Мать и дитя» (ул. Орловская, 66, 220053, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: [nastyastalybko@gmail.com](mailto:nastyastalybko@gmail.com)

*Криницкая Карина Александровна* – мл. науч. сотрудник. Республиканский научно-практический центр «Мать и дитя» (ул. Орловская, 66, 220053, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: [karinakrinitckaya@gmail.com](mailto:karinakrinitckaya@gmail.com)

*Иванова Валентина Федоровна* – канд. мед. наук, доцент. Белорусский государственный медицинский университет (пр. Дзержинского, 83, 220116, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: [belgenetics@yahoo.com](mailto:belgenetics@yahoo.com)

*Румянцева Наталья Владимировна* – канд. мед. наук, доцент, вед. науч. сотрудник. Республиканский научно-практический центр «Мать и дитя» (ул. Орловская, 66, 220053, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: [gumiantseva@inbox.ru](mailto:gumiantseva@inbox.ru)

*Кулак Виктория Дмитриевна* – врач-генетик. Республиканский научно-практический центр «Мать и дитя» (ул. Орловская, 66, 220053, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: [kulak.vd@mail.ru](mailto:kulak.vd@mail.ru)

*Зубова Татьяна Викторовна* – врач-генетик. Республиканский научно-практический центр «Мать и дитя» (ул. Орловская, 66, 220053, г. Минск, Республика Беларусь).

*Гусина Нина Борисовна* – канд. биол. наук, заведующий лабораторией. Республиканский научно-практический центр «Мать и дитя» (ул. Орловская, 66, 220053, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: [nina.gusina@tut.by](mailto:nina.gusina@tut.by)

### Information about the authors

*Asya A. Gusina* – Ph. D. (Med.), Leading researcher. Republican Scientific and Practical Centre “Mother and Child” (66, Orlovskaya Str., 220053, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: [asya.gusina@mail.ru](mailto:asya.gusina@mail.ru)

*Nastya S. Stalybko* – Junior researcher. Republican Scientific Practical Centre “Mother and Child” (66, Orlovskaya Str., 220053, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: [nastyastalybko@gmail.com](mailto:nastyastalybko@gmail.com)

*Karina A. Krinitckaya* – Junior researcher. Republican Scientific Practical Centre “Mother and Child” (66, Orlovskaya Str., 220053, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: [karinakrinitckaya@gmail.com](mailto:karinakrinitckaya@gmail.com)

*Valentina F. Ivanova* – Ph. D. (Med.), Assistant Professor. Belarusian State Medical University (83, Dzerzhinski Ave., 220116, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: [belgenetics@yahoo.com](mailto:belgenetics@yahoo.com)

*Natalia V. Rumiantseva* – Ph. D. (Med.), Assistant Professor, Leading researcher. Republican Scientific Practical Centre “Mother and Child” (66, Orlovskaya Str., 220053, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: [rumiantseva@inbox.ru](mailto:rumiantseva@inbox.ru)

*Victoria D. Kulak* – Geneticist. Republican Scientific Practical Centre “Mother and Child” (66, Orlovskaya Str., 220053, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: [kulak.vd@mail.ru](mailto:kulak.vd@mail.ru)

*Tatiana V. Zubova* – Geneticist. Republican Scientific Practical Centre “Mother and Child” (66, Orlovskaya Str., 220053, Minsk, Republic of Belarus).

*Nina B. Gusina* – Ph. D. (Biol.), Head of the Laboratory. Republican Scientific Practical Centre “Mother and Child” (66, Orlovskaya Str., 220053, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: [nina.gusina@tut.by](mailto:nina.gusina@tut.by)

**АГЛЯДЫ**  
**REVIEWS**

УДК 616.89-06:616.1/7](035)  
<https://doi.org/10.29235/1814-6023-2020-17-1-101-121>

Поступила в редакцию 18.11.2019  
Received 18.11.2019

**И. Н. Семененя**

*Институт биохимии биологически активных соединений НАН Беларуси, Гродно, Республика Беларусь*

**ПСИХОСОМАТИЧЕСКИЕ РАССТРОЙСТВА: ПРИЧИНЫ, МЕХАНИЗМЫ РАЗВИТИЯ, КЛИНИЧЕСКИЕ ПРОЯВЛЕНИЯ, ВОЗМОЖНОСТИ АУТОПСИХОКОРРЕКЦИИ**

**Аннотация.** В статье представлен обзор сведений о психосоматических расстройствах (ПСР), широко распространенных в человеческой популяции. Обращается внимание на недостаточную осведомленность практических врачей в этой области патологии. Приведены примеры жизненных ситуаций, провоцирующих возникновение ПСР, показана роль негативных мыслей и эмоционального фактора в их возникновении. Предлагается общая схема патогенеза ПСР, основанная на сдвиге баланса процессов возбуждения и торможения в центральной нервной системе в сторону преобладания первых. Угнетение тормозных процессов приводит к снижению порогов возбудимости для разных афферентных систем, развитию общей гиперестезии и гиперреактивности организма на действие внешних и внутренних, в том числе подпороговых, раздражителей, что и лежит в основе механизмов клинических проявлений ПСР. Рассмотрены вопросы о возможной роли застойных очагов возбуждения центральной нервной системы в развитии ПСР, а также о способности их к миграции в мозге, что обуславливает распространение симптомов ПСР по организму. Приведено описание психических, неврологических, кожных, сердечно-сосудистых, дыхательных, пищеварительных, мочевыделительных и сексуальных проявлений ПСР. Рассмотрены общие подходы к лечению пациентов с ПСР. Обосновано ведущее значение фактора настроения в возникновении и купировании ПСР.

**Ключевые слова:** психосоматические расстройства, патогенные мысли, угнетение тормозных процессов, общая гиперестезия, полиморфная симптоматика, аутопсихокоррекция

**Для цитирования:** Семененя, И. Н. Психосоматические расстройства: причины, механизмы развития, клинические проявления, возможности аутопсихокоррекции / И. Н. Семененя // Вест. Нац. акад. наук Беларусі. Сер. мед. навук. – 2020. – Т. 17, № 1. – С. 101–121. <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2020-17-1-101-121>

**Igor N. Semeneniya**

*Institute of Biochemistry of Biologically Active Compounds of the National Academy of Sciences of Belarus,  
Grodno, Republic of Belarus*

**PSYCHOSOMATIC DISORDERS: CAUSES, DEVELOPMENT MECHANISMS, CLINICAL MANIFESTATIONS AND FEASIBILITIES OF AUTOPSYCHOCORRECTION**

**Abstract.** The article reviews the information on the problem of psychosomatic disorders (PSDs) widespread in human population. Attention is drawn to the insufficient awareness of general practitioners in this field of pathology. The true-life situations are considered that the cause development of PSDs and the role of negative thoughts and an emotional factor in their development. A general scheme of the PSD pathogenesis is suggested, which is based on the shift in the balance of the excitation and inhibition processes in CNS towards the prevalence of the former ones. Suppression of the inhibitory processes results in the decrease of the excitation thresholds of different afferent systems and in the development of general hyperesthesia that causes the organism hyperreactivity to the external and internal actions, including the subthreshold ones and stimuli. This underlies the mechanism of PSD clinical manifestations. A possible role of CNS stagnant centers of excitement in the development of PSDs and their ability to migrate in the brain, which reflects the migration of PSD symptoms in the organism, are viewed. Mental, neurologic, cardiovascular, respiratory, digestive, urination, sexual and skin manifestations of PSDs are discussed. General approaches to treating PSD patients are considered. The fundamental importance of the mood factor in the PSD development and alleviation is substantiated.

**Keywords:** psychosomatic disorders, pathogenic thoughts, suppression of inhibitory processes, general hyperesthesia, polymorphous symptoms, autopsychocorrection

**For citation:** Semenenya I. N. Psychosomatic disorders: causes, development mechanisms, clinical manifestations and feasibilities of autopsychocorrection. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seriya meditsinskikh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2020, vol. 17, no. 1, pp. 101–121 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2020-17-1-101-121>

**Введение.** Влияние психики человека, его эмоций на состояние физического или телесного здоровья было известно еще в глубокой древности и рассматривалось в контексте взаимоотношений души и тела. В настоящее время актуальность этой проблемы неизмеримо возросла. Жизнь современного человека характеризуется колоссальными нагрузками на его психическую сферу, естественным следствием которых являются эмоциональные перегрузки и стрессы, приводящие к снижению устойчивости психики к действию различных информационных факторов, нарушениям в системе психического управления организмом человека и его соматической (телесной) сферой. В большинстве случаев такие нарушения приводят к возникновению психосоматических расстройств (ПСР), т. е. к психогенно или эмоциогенно обусловленным функциональным (обратимым) нарушениям в деятельности органов и систем организма. При длительном течении ПСР могут развиваться стойкие органические изменения в органах и тканях – психосоматические заболевания. К ним, в частности, относятся артериальная гипертония, бронхиальная астма, язвенная болезнь желудка и двенадцатиперстной кишки, неспецифический язвенный колит, тиреотоксикоз, сахарный диабет, ревматоидный артрит, нейродермит, псориаз и др. В современном мире роль психики в генезе различных заболеваний, в том числе тяжелых, существенно возрастает. По прогнозам ВОЗ, к 2020 г. психические расстройства войдут в пятерку болезней, приводящих к потере трудоспособности [1].

В настоящее время хорошо известно, что психика является самой мощной управляющей системой организма, в арсенале которой находятся все нервные и химические регуляторы. Поэтому ни одна клеточка организма не свободна от регулирующего влияния психики и любая мысль может изменять течение молекулярно-генетических, биохимических, биофизических и физиологических процессов в соответствии со своим содержанием. Приведем пример, связанный с влиянием мыслеобразов на появление стигматов на теле человека. Так, у Максима Горького в романе «Жизнь Матвея Кожемякина» (над которым он работал на острове Капри, Италия), есть эпизод, когда муж в припадке ревности убивает свою жену ударом ножа в печень. Писатель настолько эмоционально представлял эту сцену, что упал в обморок и у него появилась ярко-багровая полоса в области печени, которая через несколько дней исчезла (истерическая стигма) [2].

**Причины ПСР.** Пусковыми причинами развития ПСР могут быть несчастный случай, смерть и годовщина смерти родных и близких, угроза потери любимого человека, обманутая любовь, серьезные неудачи в служебной и общественной деятельности, утрата престижа, борьба за получение признания и продвижение по службе, семейные ссоры, измена, развод, получение какого-либо тягостного известия, привлечение к судебной ответственности, нравственные потрясения, увольнение с работы, ежедневное выполнение бессмысленных обязанностей, выматывающих человека, чрезмерные умственные перегрузки, боязнь не справиться с порученным делом, хроническая нехватка времени и др. [3–6].

Указанные причины приводят к расстройствам эмоциональной сферы человека, которые непосредственно запускают механизмы ПСР. Это снижение настроения, ангедония (утрата чувства радости), досада, печаль, тревога, беспокойство, тоска, подавленность, страх, чувство вины, самобичевание, отчаяние, безнадежность, отвращение, нетерпеливость, скрытый гнев, подавление агрессивных импульсов и др. У подавляющего большинства пациентов в основе ПСР лежит скрытая, или маскированная, депрессия, главным проявлением эмоционального расстройства при которой является снижение настроения [3–6].

ПСР чаще развиваются у лиц с конституционально повышенной тревожностью, мнительностью, повышенной впечатлительностью и возбудимостью, замкнутых, настороженных, склонных к пессимизму, фобиям, педантичных, мелочных, застенчивых, сверхсовестливых, амбициозных и др. [5, 6].

**Механизмы развития ПСР.** Очень упрощенно, схематично, механизмы развития ПСР можно представить следующим образом. В основе регулирующего влияния нервной системы на

процессы жизнедеятельности лежит взаимодействие двух основных физиологических процессов – возбуждения и торможения. Процессы возбуждения, распространяющиеся в виде электрических импульсов по нервам от рецепторов кожи, скелетных мышц, костей, связок, суставов, внутренних органов, сосудов к головному и спинному мозгу, а от них – к органам и тканям, определяют стимулирующее влияние на функциональную активность последних: чем выше активность процессов возбуждения, тем интенсивнее работает орган или ткань. Процессы же торможения, наоборот, ограничивают активность процессов возбуждения, понижая тем самым интенсивность функционирования органов и тканей. Для чего это нужно? А для того, чтобы активность стимулирующих нервных влияний не была избыточной, не приводила к чрезмерному напряжению, перегрузке и сбоям в работе органов и тканей. Фактически значение процессов торможения сводится к обеспечению соответствия величины ответной реакции организма качественным и количественным характеристикам действующих на него раздражителей. Приведем простой пример. Если, например, лягушку ущипнуть за лапку – лапка отдернется. Однако если перед этим лягушке ввести блокатор тормозных процессов на уровне спинного мозга – стрихнин, то вместо реакции отдергивания лапки мы получим генерализованную судорожную реакцию. Почему? Да потому что процессы возбуждения, возникшие в рецепторах лапки при щипке и распространяющиеся по нервам в спинной мозг, не ограничиваются теми сегментами спинного мозга, которые регулируют движения этой лапки, а вследствие резкого подавления тормозных процессов распространяются по всему спинному мозгу, вызывая судороги. Вот и в случаях с ПСР, по-видимому, действуют подобные механизмы. Причинные факторы, вызывающие ПСР, приводят к угнетению процессов торможения и, соответственно, к доминированию процессов возбуждения, что проявляется прежде всего в общей гиперестезии, т. е. в повышении общей чувствительности нервной системы к внешним и внутренним раздражителям. При этом слабые раздражения, в том числе подпороговые, воспринимаются как сильные или даже экстремальные. Например, малейшее прикосновение к коже или волосам заставляет человека вздрагивать и может вызвать сильную боль, а легкое штриховое раздражение кожи приводит к нестерпимому зуду. Гиперестезия ногтей затрудняет их стрижку, а пальцев рук – завязывание шнурков, надевание перчаток, приготовление пищи; в некоторых случаях из-за выраженной гиперестезии женщины отказываются брать на руки ребенка [6].

В пользу приведенной выше общей схемы механизмов возникновения ПСР свидетельствует способность лекарственных средств из группы бензодиазепиновых транквилизаторов (диазепам, тазепам, феназепам, реланиум, валиум, седуксен, ксанакс и др.) эффективно устранять клинические проявления данной патологии. Указанные препараты усиливают тормозные процессы в головном и спинном мозге за счет потенцирования действия собственного тормозного медиатора в нервной системе – гамма-аминомасляной кислоты. Понятно, что в патогенезе ПСР в мозге принимают участие различные медиаторы.

Помимо сдвига баланса процессов возбуждения и торможения при развитии ПСР в центральной нервной системе, судя по всему, имеет место и формирование так называемых локальных очагов застойного возбуждения в виде циркуляции нервных импульсов по замкнутым нейронным цепям, которые обеспечивают появление конкретных клинических симптомов. Особенно это характерно для ипохондрической фиксации, т. е. чрезмерной, необоснованной сосредоточенности больного на каких-то незначительных ощущениях в тех или иных частях тела, которые со временем перерастают в тягостные, мучительные симптомы, свидетельствующие, по мнению пациента, о наличии у него какого-то тяжелого заболевания. Эти мысли порой становятся главной заботой больного, хотя ничего органического там нет. Постоянная фиксация мысли на каком-то участке тела приводит к снижению порогов возбудимости в мозге и на уровне периферических рецепторных образований для идущих от этого участка нервных импульсов. А это, в свою очередь, вызывает локальную гиперестезию, проявляющуюся в усилении разнообразных неприятных ощущений, выраженность которых со временем возрастает, если концентрация внимания на них сохраняется и усиливается.

Для понимания механизмов ПСР при формировании локальных очагов застойного возбуждения приведем следующий пример. У одного пациента после смерти отца стали выпадать волосы.

Через несколько месяцев они отрасли. Возможная причина – смерть матери. Это свидетельствует о том, что сформировавшаяся в организме патологическая система в форме очагов застойного возбуждения, поддерживающая ПСР-симптомы, может или разрушиться, или, скорее всего, перейти в латентное (неактивное) состояние под действием другого сильного, хотя и схожего по информационным характеристикам раздражителя, но формирующего другую патологическую систему с иными ПСР-симптомами. Вероятность перехода ПСР-систем в латентное состояние с последующей их активацией подтверждается примерами о возобновлении прежней ПСР-симптоматики после действия факторов, «оживляющих» память на какие-то негативные события. Так, например, описана ежегодно повторяющаяся крапивница в виде зудящих волдырей у отца на годовщину смерти дочери [6].

Другой особенностью очагов застойного возбуждения в ЦНС, связанных с ПСР, является, по-видимому, их способность к миграции в мозге с соответствующей миграцией клинических симптомов на периферии, например миграция болей из одного сустава в другой или по всей брюшной полости.

**Пациенты с ПСР как большая проблема для здравоохранения.** Больные с ПСР являются особой категорией пациентов. Среди врачей для них закрепились такие определения: «больные, у которых ничего нет», «хронические ходоки по врачам», «хронические жалобщики», «знакомые лица», «случаи с толстым досье», «больные, заблудившиеся в соматической клинике», «проблема № 1 в современной медицине». И действительно, пациенты с ПСР являются большой проблемой для здравоохранения. По мнению многих авторов, более половины пациентов, обращающихся с соматическими жалобами в поликлиники и стационары, нуждаются лишь в коррекции эмоционального состояния, что позволяет снять клинические симптомы и фактически вылечить таких «больных». Однако психосоматическая грамотность и настороженность врачей общей практики, большинства узких специалистов в целом недостаточно высоки, что приводит к большим затратам времени и средств на обследование этих пациентов с установлением зачастую неверного диагноза и назначением необоснованного лечения, пока не будет установлена истинная причина недомогания. Огромная нагрузка на диагностические службы снижает доступность их услуг для тех, кто в них действительно нуждается. Больные с ПСР порой годами безрезультатно принимают огромное количество лекарств, проходят многочисленные курсы физиотерапевтических процедур, подвергаются хирургическим вмешательствам. Приводится пример, когда 150 пациентов с ПСР до установления истинного диагноза и назначения адекватной терапии получили необоснованное лечение в виде 496 курсов консервативной терапии, 811 терапевтических вмешательств и 244 хирургических операций [6–8].

Указанные состояния побуждают больных изучать медицинские справочники и монографии, посещать конференции и съезды терапевтов, кардиологов, гастроэнтерологов и других специалистов, дискутировать с лечащими врачами по вопросам диагностики и лечения. Они беспрестанно размышляют о своих симптомах и их причинах, диагностируя у себя различные заболевания, упорно ходят от врача к врачу, разъезжают по всей стране, стремясь найти «настоящего специалиста», который поставит им правильный диагноз. По мере увеличения длительности страдания нередко наблюдается ипохондрическое развитие личности, в результате чего больные уже не столько просят помощи, сколько требуют ее, не прощая врачам неспособности или нежелания разобраться в их состоянии. Они всех критикуют, подрывают авторитет врачей в глазах других больных, настойчиво обращаются в различные инстанции с бесконечными жалобами, обвиняют врачей в халатности и преступном невнимании к ним, требуют судебного разбирательства и наказания виновных [6, 8, 9].

Больные ищут возможности достать «самые лучшие лекарства», лечатся бесконечными курсами антибиотиков и других противомикробных средств, что зачастую приводит к развитию дисбактериоза и приобретению в связи с этим множественной устойчивости к антиинфекционным средствам, используют даже цитостатики для предупреждения возможного развития рака или «уничтожения уже имеющейся злокачественной опухоли». Некоторые больные, наоборот, наотрез отказываются от каких бы то ни было назначенных врачом лекарств, выбрасывая их за окно или спуская в унитаз [6, 9].

Частое употребление алкогольных напитков как наиболее легкий способ аффективной разрядки эмоционально нестабильных людей нередко приводит к хроническому алкоголизму. Некоторые больные совмещают пребывание на больничном листе по поводу, например, «стенокардии напряжения» с ежедневными продолжительными тренировками в плавательном бассейне либо бегом трусцой в любую погоду и т. д. [6, 8, 10–12].

По мнению экспертов ВОЗ, каждый человек в своей жизни по меньшей мере один раз испытывает депрессивное состояние, сопровождающееся соматическими нарушениями. Исходя из этого, можно утверждать, что ПСР хоть и кратковременно, хоть и в легкой форме, но наблюдаются практически у каждого человека, в том числе и у детей, например, в виде психосоматических реакций на различные эмоциональные стимулы, проявляющихся сердцебиением, повышением артериального давления, побледнением или покраснением, «медвежьей болезнью» (поносом), синдромом «мокрых штанов» и др. [1, 13, 14].

Таким образом, пациенты с ПСР являются серьезной социально-экономической проблемой не только для здравоохранения, но и для государства в целом. Масштабы распространения ПСР точно не известны, но они огромны и постоянно нарастают.

**Клинические проявления ПСР.** Своеобразным зеркальным отражением расстройств эмоциональной сферы человека являются клинические проявления ПСР. Они настолько многообразны, что охватывают практически все возможные болезненные ощущения, которые только могут возникать у человека. Главная их причина, как уже упоминалось, – общая психическая гиперестезия.

**Психические проявления.** К числу психических проявлений ПСР относятся снижение настроения, подавленность и тоскливость. Многие больные испытывают мучительное чувство «тупой, щемящей тоски, которая нападает на человека в предчувствии загадочной и ничем не мотивируемой угрозы». Состояние тоски и угрозы носит нередко пароксизмальный характер (по выражению больных, «жить не хочется, хоть удавись!»). Они со страхом думают о возможности повторения этих приступов, говорят о безрадостности, утрате чувства счастья, юмора и вкуса к жизни, снижении или полной утрате прежних интересов, апатии и безразличии ко всему («ничего не хочется делать», «никого не хочется видеть», «грязь в доме не волнует, даже за собой перестала следить», «на работу иду, как к нелюбимой жене, в гости – как на эшафот, в больницу – как в могилу», «красота не воспринимается, даже хорошее не радует, смешное не смешит», «шутки и смех окружающих или соседей по палате выводят из себя» [6, 12, 15].

К частым проявлениям ПСР относят расстройства сна. О нормальном сне многие больные мечтают как о высшем благе. Чаще всего им не дают заснуть страх перед бессонницей, наплывы тягостных мыслей, головная боль, неприятные и гнетущие ощущения в тех или иных органах и частях тела, возникающие или резко усиливающиеся по мере приближения ночи и нарастания аффективной напряженности. У некоторых больных нарушение засыпания обусловлено страхом смерти во время сна, боязнью заснуть и не проснуться. Особенно тяжело переносится пациентами стойкая бессонница. Они мечутся в постели или напряженно вслушиваются в тишину, отсчитывая оставшиеся до рассвета часы и минуты. Иногда мягкая постель напоминает им «раскаленную верхнюю полку в парилке». Снотворные средства при этом эффекта не дают. Больные описывают такие состояния как «пытку в ожидании утра». Иногда отмечается расстройство так называемого «чувства сна», когда при объективно неплохом сне больные утверждают, что не спят неделями и месяцами. Встречаются случаи, когда их мучают кошмарные сновидения; они разговаривают во сне, а иногда просыпаются от собственного крика. Для многих из них характерно раннее пробуждение, сопровождающееся нередко приступами учащенного сердцебиения, болями в области сердца и чувством нехватки воздуха после непродолжительного, беспокойного и поверхностного сна [1, 6, 9, 14].

Для больных с ПСР характерны астенические состояния. Эмоциональные перегрузки и тревожно-депрессивные переживания обуславливают жалобы на вялость и чувство крайней усталости, слабость в руках и ногах, чувство разбитости и физической истерзанности, «полное истощение нервной системы», умственную лень и равнодушие ко всему, сменяющие изначальные вспыльчивость и раздражительность. Чувство крайней усталости может локализоваться в го-

лове, груди, подложечной области, спине, позвоночнике, ногах или во всем теле. Собственное тело воспринимается как неподъемная ноша. Больные жалуются на то, что «голову порой трудно держать на плечах», «поясница словно надламывается», «ноги делаются ватными», «сам себя еле таскаешь». Ощущение повышенной утомляемости с заметным снижением умственной и физической работоспособности у них обычно несоизмеримо выполненной работе. Так, приводится пример, когда больная стирала рубашку «по частям», отдыхая через каждые 5–10 мин [6, 8, 12].

У некоторых пациентов отмечаются отчетливые суточные колебания астении. Они с трудом поднимаются с постели по утрам, жалуясь на вялость, разбитость и сердцебиение («как выжатый лимон», «как будто на мне всю ночь дрова возили», «как будто и не спала»). Такие больные «приходят в себя» обычно в течение дня и могут быть очень общительны по вечерам. Астенические состояния у них могут проявляться приступообразно в виде внезапно наступающей общей слабости, «сбивающей с ног», и усиления чувства тревоги и страха по этому поводу. Нарастающая астения усугубляет тревогу и страх, что еще больше усиливает астению, доводя больного порой до полного изнеможения [6, 12, 14].

Смутное ощущение соматического дискомфорта при отрицательных эмоциях формирует ипохондрическое настроение индивида, которое постепенно трансформируется в чувство болезни – «я чем-то болен, но чем?». При этом нарастают страхи и опасения за собственное здоровье. Больные жалуются на то, что «голова тяжеловата, несвежая, как после угара, – не началось ли уже кровоизлияние в мозг?», «какая-то особая слабость во всем теле – не преддверие ли это инсульта или инфаркта миокарда?», «ноги холодные – не уходит ли от них кровь, а может быть, кровь от сердца до них уже не доходит?», «ноет поясница – не оборвалось ли что-нибудь внутри при резком толчке в автобусе?», «комочек встает в горле или за грудиной – не рак ли это?». Постоянные или периодически усиливающиеся болезненные ощущения на фоне снижения общего жизненного тонуса и чувство физического и психического дискомфорта почти неизбежно приводят больного к мысли о наличии у него какого-то серьезного заболевания, не распознанного врачами. Подозрение, что в организме что-то не так, довольно быстро сменяется уверенностью, что в нем «все-таки что-то есть». Легкую гиперемию зева больные принимают за дифтерию или «первый признак лейкоза», головную боль – за менингит или опухоль мозга, тошноту и вздутие живота – за острый панкреатит, геморроидальный узел – за рак прямой кишки и т. д. [3, 6, 11, 12].

Будучи и не здоровыми, и не больными, такие пациенты живут в постоянном ожидании инсульта и инфаркта миокарда; они ищут и находят у себя симптомы анемии и сепсиса, сахарного диабета и начинающейся гангрены конечностей; часами рассматривают себя в зеркале, пытаясь распознать признаки болезни, или, наоборот, испытывают панический страх перед зеркалом, которое «раскрывает страшную правду о болезни»; носят с собой записки с фамилией и адресом на случай внезапной смерти вне дома, не запирают дверей, чтобы соседям не нужно было взламывать квартиру «когда уже будет поздно». Приводится пример, когда больной на протяжении многих лет прощался со своей семьей каждый вечер перед сном со слезами, уверенный в том, что он их больше никогда не увидит, и каждый день обнимал их по утрам со слезами радости [3, 6, 14, 16].

Обостренное ощущение невыносимого страдания, страх неизвестности вынуждают больных активно добиваться различных обследований и хирургических вмешательств (удаление небных миндалин при малейшем подозрении на хронический тонзиллит, резекция щитовидной железы при выраженном устойчивом дискомфорте в области шеи, аппендэктомия и холецистэктомия при болевом синдроме в брюшной полости и т. д.) [3, 6, 14].

Нередко встречается дисморфофобия – болезненное, неадекватное восприятие своей внешности, когда больной, убежденный в собственном несовершенстве, настаивает на хирургическом вмешательстве с целью устранения мнимых или несущественных дефектов, а также предпринимает попытки сам себя оперировать (симптом Ван Гога). Иногда имеют место бактериофобия и мизофобия (боязнь пыли и «нечистоты»), проявляющиеся выраженной брезгливостью, страхом прикосновения к окружающим людям и объектам окружающей среды. Частыми фобиями являются канцеро- и кардиофобия, когда любые неприятные ощущения воспринимаются как симптомы злокачественной опухоли с метастазами или как предынфарктное состояние с ежеминутной угрозой остановки и разрыва сердца [11, 14, 15].

Порой пациентов одолевает страх одиночества, когда они ни на шаг не отпускают от себя родных или жалуются на резкое ухудшение самочувствия при переселении в отдельную квартиру или переводе в отдельную палату [6, 8].

У некоторых больных в метро в часы пик возникают панические атаки (страх смерти от удушья, инфаркта миокарда или инсульта), сопровождающиеся выраженной тахикардией, обильным пототделением, головокружением и даже обморочным состоянием на пике аффекта [6, 8, 12]. В ряде случаев наблюдаются состояния, которые особенно пугают больных, – на какое-то мгновение они видят себя со стороны мертвыми.

Встречаются пациенты, у которых один лишь вид здоровых, не думающих о смерти людей, живущих размеренной жизнью и обычными житейскими заботами, вызывает крайнее раздражение, а громкий смех – неудержимую ярость. В то же время вспышки злобы, а иногда чуть ли не ненависти к окружающим могут сменяться невольными слезами, ощущением неловкости и сожаления по поводу своего срыва. В конце концов жизнь этих больных становится невыносимой как для них самих, так и для окружающих людей, и в отдельных случаях имеют место суицидальные попытки [11, 14].

**Неврологические проявления.** Особенностью неврологических жалоб пациентов с ПСР является то, что у них может болеть все в связи с психической гиперестезией, т. е. повышением чувствительности нервной системы к действию любых раздражителей. Любое прикосновение к телу (даже одежды), расчесывание волос может вызвать острую боль, и даже незначительное болезненное ощущение может стать невыносимым. На обычные раздражители они реагируют как на чрезвычайные. Например, осторожный стук в дверь заставляет их вздрагивать («точно бьют молотком по голове»), громко произнесенное слово вызывает головную боль и звон в ушах, жужжание мухи может доводить их до иступления и т. д. В то же время нередко отмечается выраженная изменчивость болевой чувствительности. Так, например, страшная боль, от которой пациент чуть ли не кричал, может внезапно исчезнуть. Наряду с гиперестезией могут встречаться и локальные очаги гипестезии и даже анестезии (прежде всего тактильной и болевой) на различных участках кожи и слизистых оболочек. Участки гипестезии и анестезии могут формироваться в результате временного компенсаторного подавления чувствительности близлежащих отделов нервной системы резко повышенной чувствительностью других отделов. По-видимому, это имеет значение для предохранения нервной системы в целом от чрезмерных перегрузок. При развитии, например, анестезии слизистой оболочки носа отсутствует реакция чихания на действие раздражающих веществ, анестезия глаз не приводит к рефлекторному слезотечению и миганию при попадании инородного тела и т. д. Резкая гипестезия или анестезия отдельных участков кожи может приводить к тому, что больные с удивлением обнаруживают у себя, например, ожоги, появившиеся в результате обкладывания своих «ледяных» ног бутылками и грелками с горячей водой [3, 6, 11].

Довольно частым симптомом ПСР является головная боль (отмечается, как правило, у женщин). Считается, что психогенная головная боль встречается чаще, чем другие ее формы. Характеризуя ее, больные говорят о полноте и напряженности в черепе, переливании в нем и ощущении того, что что-то рвется, сотрясании и выворачивании мозга наизнанку («не то давит, не то распирает», «на мозги как давит кто-то», «тяжелая, как свинцом налитая»). Болезненные ощущения могут быть весьма изменчивы: голова болит то слева, то справа, то в одном месте, то в другом, может быть тупой, острой (сверлящей, стреляющей, жгучей), пульсирующей, то в затылке жмет, то в темени давит, то в висках простреливает, то во лбу как иголочками покалывает. Нередко встречается синдром так называемой «каска неврастеника» (ощущение сдавливающего обруча на голове или ремня, стягивающего лоб). Боль усиливается при умственном напряжении и высокой концентрации внимания [3, 6, 11].

Весьма распространенным симптомом является головокружение. Нередко в его основе лежит агорафобия – страх открытых пространств или скоплений людей. Вот как описывает свое состояние один из больных: «Когда я смотрю на противоположную сторону проспекта или площади, у меня очень быстро появляются сердцебиение и какая-то пелена перед глазами; мне кажется, что я потеряю сознание на середине проезжей части и погибну под колесами автомобиля; после

этого начинает кружиться тротуар, уходит из-под ног почва и надо срочно прислониться к стене или столбу, чтобы не упасть». Именно тревога и страх за свое состояние нарушают автоматизм ходьбы, и у больных возникает чувство неустойчивости собственного тела («ноги как ватные, дрожат в коленях, не слушаются, подкашиваются»). Многие из них жалуются на пошатывание при ходьбе, передвигаются «по стеночке», утверждают, что их «бросает» из стороны в сторону. Некоторые боятся выходить из-за этого на улицу. Кроме того, больные так описывают свои ощущения: «какой-то непорядок в голове», «голова несвежая, туманная, как при высокой температуре», «смотрю как сквозь серую дымку», «словно сознание вот-вот потеряешь или смерть уже близка». Одна больная, опасаясь повторения подобных состояний в определенных условиях, так описала свое состояние: «Я сразу поняла, раз все двери и окна закрыты, мне будет плохо». Иногда отмечается связь головокружения с умственным перенапряжением. Головокружениям нередко сопутствуют обморочные состояния. Их причинами могут быть острая сосудистая недостаточность в виде кратковременной ишемии головного мозга при падении сосудистого тонуса на пике аффекта, резкий подъем артериального давления при испуге и др. [3, 6, 14].

Как проявление гиперестезии у ряда больных могут встречаться психогенные невралгии, которые проявляются по ходу межреберных промежутков (боли в левой половине грудной клетки нередко ассоциируются с болями в сердце), тройничного нерва (от висков к челюстям и деснам с ощущением онемения, покалывания и даже острых «прострелов» в верхней губе, подбородке и др.), в области плечевого сустава с ограничением объема движений в нем, молочных желез (со страхом рака молочной железы) и др. Отдельной проблемой для стоматологов являются больные, которые жалуются на «адскую» боль в здоровых зубах и требуют их удаления. Встречаются пациенты, у которых даже малейшее движение вызывает ощущение невыносимой боли. Особенностью психогенных невралгий является их мигрирующий характер. Так, один больной долго и безуспешно лечился от невралгии тройничного нерва, затем – от последовательно сменяющихся друг друга межреберной невралгии, шейного и пояснично-крестцового радикулита [3, 11, 15].

В клинической практике нередко встречается психогенный пояснично-крестцовый радикулит, часто «обостряющийся» при развитии депрессивных состояний после семейных неурядиц, конфликтов на работе и др. У одной больной ежегодные обострения этого «заболевания» возникали с началом напряженной работы над составлением годового отчета (в январе) и прекращались вскоре после его завершения. Особенно часто в последнее время отмечают психогенный цервикальный синдром, проявляющийся болевыми ощущениями в области шеи и затылка, в возникновении и исчезновении которых прослеживается четкая связь с наличием или отсутствием депрессивных состояний [6, 16].

Довольно часто выявляется так называемый синдром беспокойных ног в виде ночной парестезии нижних конечностей (неопределенные ощущения тепла или холода, ползания мурашек, покалывания и др.), исчезающей при движении. Пациенты так описывают свои ощущения: «ноги ломит, стягивает, дергает, крутит», «подошвы как огнем горят, жжет их», «какая-то тоскующая боль то в левой, то в правой ноге или в обеих сразу, от которой места себе не находишь», «тошнота от ног идет по ночам, не знаешь, куда себя деть». Больные могут всю ночь напролет ходить по комнате, растирать ноги, расчесывать их до крови, охлаждать под краном с водой. Утром наступает существенное облегчение, а днем они подобных ощущений не испытывают или не замечают их в связи с отвлекающим действием других раздражителей [11, 15].

К числу неврологических проявлений ПСР относят так называемые функциональные судороги. Они могут проявляться в виде писчего спазма, когда возникают трудности в написании рукой текста, спазма телеграфистов, портных, доильщиц, пианистов, флейтистов, скрипачей, артистов балета (спазм икроножных мышц), функциональной спастической кривошеи. Существует зависимость степени выраженности различных проявлений функциональных судорог от концентрации на них внимания – тем больше внимания фиксирует больной на имеющемся у него спазме, тем сильнее тот проявляется [3, 6, 8].

Тяжелым испытанием для многих является шум в ушах или в голове, особенно по вечерам, когда больной кладет голову на подушку, и ночью при бессоннице (в голове «как улей жужжит», «как телеграфные провода гудят», «словно самовар шумит или паровоз пыхтит» и т. д.) [6, 8].

Иногда пациенты жалуются на снижение остроты зрения, повышенную утомляемость глаз при чтении, ощущение тумана перед глазами, нечеткость зрительного восприятия. Реже встречается зрительная гиперестезия с выраженным обострением зрения, появлением «молний», «искр», цветных кругов в глазах и др. Такие больные не в состоянии смотреть телевизор, перестают читать и др. [8, 11].

У некоторых пациентов встречается обонятельная гиперестезия. Они жалуются на отвращение к ранее для них приятным или нейтральным запахам (табак, благовония и др.), отмечают пристрастие к «техническим» запахам (бензин, лаки, краски и др.) [6, 12].

Комплексным неврологическим проявлением ПСР является так называемый гипоталамический синдром, имеющий различные клинические варианты течения и объединяющий множество симптомов со стороны различных физиологических систем организма, органов и тканей. Особенно тяжело протекают гипоталамические кризы.

**Костно-мышечная система.** Пациенты с ПСР жалуются на нестойкие мигрирующие полиартралгии и миалгии в виде тупых, тянущих, ломящих, ноющих, жгучих или дергающих болей. Отмечается чувство «свинцовой» тяжести и крайней усталости в конечностях, возможно появление онемения, покалывания или ползания мурашек, стягивания, жара, холода или даже передвижения под кожей инородного тела, особенно в околосуставных тканях. Интенсивность болезненных ощущений резко возрастает на пике эмоционального напряжения и по ночам, при бессоннице, когда все кости тянет, «будто душу выворачивает», рвет, сверлит, крутит. Мигрирующий характер болей проявляется «перемещением» их из одного сустава в другой в течение нескольких часов или дней, хотя возможна и локализация патологических ощущений в каком-либо суставе, иногда с преходящей его припухлостью и ограничением подвижности [3, 6, 11].

Как проявление ПСР иногда встречается интермиттирующий гидрартроз, или перемежающаяся водянка, – острый суставной синдром с резкой болью, отеком околосуставных тканей и даже выпотом в полость сустава. Перемежающаяся водянка развивается всегда в одном и том же суставе, чаще всего в коленном, и, как правило, через одинаковые промежутки времени, например каждые 2 недели. Она не требует назначения противовоспалительной терапии и бесследно исчезает через 3–8 сут [6].

Интересный случай описан в 1894 г. одним из крупных специалистов по проблемам ПСР Г. Оппенгеймом [17]: «В наблюдавшемся мною случае резекция коленного сустава считалась делом решенным: только благодаря вмешательству одного из приглашенных врачей больную отправили предварительно ко мне. Она вошла на двух костылях, а четверть часа спустя ушла без них».

Иногда больные жалуются на диффузные или локальные тягостные ощущения по ходу позвоночника, в конечностях, межлопаточной и пояснично-крестцовой областях. Мышцы спины, ягодиц, конечностей могут то ныть, то неметь, появляются ощущения покалывания, пощипывания, скручивания, сверления, дергания, простреливания, мышечной скованности, одеревенелости, «замороженности» всего тела. На высоте ипохондрического раптуса встречаются случаи возникновения своего рода озноба при нормальной температуре тела, при этом у пациентов могут громко стучать зубы [3, 6, 11].

**Сердечно-сосудистые расстройства.** Пациенты с ПСР нередко испытывают болезненные ощущения в левой половине грудной клетки (приступообразные или длительные на протяжении многих дней и месяцев), которые могут распространяться на правую половину грудной клетки, в левое подреберье, на всю верхнюю часть живота, отдавать в шею, лопатку, околосуставную и поясничную области, верхние и нижние конечности, яички. Боли могут быть тупыми, глухими, давящими, сжимающими, ноющими, ломящими, тянущими, щиплющими, режущими, колющими, пульсирующими. Могут отмечаться тяжесть, стеснение, напряженность и жжение в области сердца. Больные так описывают свои ощущения в области сердца: «тоскливое сжатие сердца по утрам и по мере приближения бессонной ночи», «чувство тревоги и тяжести на сердце, словно кто-то наступил на него», «сердце как огнем горит», «левая часть грудной клетки немеет, как в холодильнике», «сердце замирает, останавливается, и это терпеть невозможно, – кончается, уходит из меня жизнь, и только сауна снимает эти ощущения», «как будто ком за грудиной находит, что-то тяжелое к сердцу подвешено, камень на нем лежит» [6, 8, 15].

Бывает, что на пике эмоциональных расстройств (волнение, тревога, страх, панический ужас) больные громко стонут и причитают, мечутся по комнате, катаются по полу «от сердечной боли», принимают любые лекарства, попадающиеся под руку, прикладывают к сердцу то теплую грелку, то горчичники, то пузырь со льдом, вызывают скорую помощь или бегут в поликлинику с требованием немедленной госпитализации. Описан случай, когда пациент принял сразу 17 таблеток нитроглицерина, 4 – папаверина и 2 – валидола (по его словам, «больше ничего не было»). Следует отметить, что при приеме нитроглицерина у большинства больных с ПСР полный терапевтический эффект достигается не через 2–3 мин, как при классической стенокардии, а либо почти мгновенно, как только больной положит таблетку под язык, либо спустя 30–40 мин после приема [6, 16].

Нередким явлением у пациентов с ПСР являются нарушения сердечного ритма, чаще в виде пароксизмальной тахикардии (синусовой, наджелудочковой, желудочковой). Интересно, что приступ тахикардии, развившийся дома или на работе, зачастую не снимается при введении противоаритмических средств в достаточной дозе (например, 10–15 мл 10 %-ного раствора новокаинамида), но прекращается, как только больной почувствует себя в безопасности (в машине скорой помощи либо в приемном покое больницы). Пациенты так описывают свое состояние при пароксизмальной тахикардии: «сердце бьется, трепыхается как рыба на берегу, и это так страшно, что хочется прижать его, чтобы не выскочило, а в голове только одна мысль: уж не конец ли? Или даже просто – конец!». Больные слышат стук своего сердца через подушку или матрац («от этого сердцебиения даже кровать дрожит»), ощущают неприятное («до дурноты») чувство «ненормальной» пульсации не только в сердце, но и в висках, горле, под левой лопаткой, в ладонях, эпигастральной области и во всем теле. В ряде случаев боли и приступы тахикардии сопровождаются ощущениями озноба или жара во всем теле, похолодания и онемения конечностей, невозможности полного вдоха, чувства нехватки воздуха и др. [6, 12, 14].

Другим нарушением сердечного ритма у больных с ПСР являются экстрасистолы, которые могут быть одиночными или групповыми. В большинстве случаев экстрасистолия возникает преимущественно по утрам – при пробуждении («когда поймешь, что день не сулит ничего хорошего») или по пути на работу («от которой в условиях конфликтной ситуации особой радости не ждешь») и прекращается при эмоциональном подъеме и смене обстановки, в выходные дни или во время отпуска и др. [12, 16].

Серьезным расстройством является кардиофобия, которая формируется у склонных к ее развитию пациентов как чувство дискомфорта в области сердца или в левой половине грудной клетки, возникающее первоначально в условиях, например, психотравмирующей ситуации, что обуславливает в дальнейшем ипохондрическую фиксацию на деятельности сердца, нарастающую уверенность в наличии серьезного заболевания сердца и страх смерти. Такие больные постоянно считают у себя пульс, панически реагируют на его малейшие изменения, строго дозируют физические нагрузки. Многие пациенты отказываются от всего, что может их взволновать и «повредить сердечку», – просмотра кинофильмов, посещения театров, курения, употребления алкоголя, кофе, крепкого чая, разговоров о смерти, присутствия на похоронах, чтения серьезной литературы, любого умственного напряжения. Они тщательно следят за питанием, исключая животные жиры (чтобы не допустить повышения уровня холестерина в крови), пьют растительное масло для профилактики атеросклероза, не едят черный хлеб и другие продукты, вызывающие метеоризм, что увеличивает нагрузку на сердце. Некоторые из них ездят на работу только в сопровождении кого-то из близких, стараются держаться вблизи стоянок такси, которые смогут доставить их в больницу в случае чего, испытывают панический страх толпы, которая может смять их, если станет плохо с сердцем. Для таких больных характерна полная социальная инвалидизация, и они могут категорически отказываться от всякой трудовой деятельности [6, 15].

Приводится интересный случай, когда у больной, работавшей с очень важными документами, по пути на работу и в течение трудового дня развивалось по несколько приступов стенокардии, в результате чего ей даже была установлена II группа инвалидности. После ее перевода с «бумажной» работы на работу в заводской цех (за станок) чувство ответственности за хранившиеся у нее документы исчезло и полностью прекратились приступы стенокардии [6].



**Расстройства пищеварительной системы.** У пациентов с ПСР часто отмечаются снижение или отсутствие аппетита, значительное ослабление или полное отсутствие вкусовых ощущений («все кажется безвкусным, как трава»). Иногда развивается полное отвращение к еде вплоть до рвоты после нее и тошноты при одном виде и запахе пищи. Периоды анорексии сменяются периодами нормального или даже повышенного аппетита, что находится в тесной связи с изменением настроения. Встречаются случаи четкого суточного колебания аппетита, когда больные «не могут смотреть» на пищу по утрам, но с удовольствием ее поглощают вечером или ночью. Плохое настроение может приводить как к полифагии, так и к угнетению аппетита. В основе полифагии и булимии может лежать акория – утрата чувства насыщения, хотя чаще всего это связано с заботой об укреплении организма. Пароксизмы острого голода могут сменяться почти полным отвращением к пище. Во время таких приступов может отмечаться пристрастие к одним блюдам (например, кислым) и отвращение к другим (вплоть до непереносимости запаха мясных и молочных блюд), а также извращение вкусовых ощущений. Так, иногда больные начинают поедать мед, известку, уголь и даже пить уксус [3, 6, 8, 12].

Встречаются случаи, когда самоограничение в еде может приводить не к уменьшению, а, наоборот, к увеличению массы тела, что свидетельствует о существенном снижении интенсивности обменных процессов. В некоторых случаях при глубокой депрессии со страхом смерти от какой-либо болезни (чаще всего от рака) упорная анорексия, как считается, является одной из форм самоубийства. Бывает и наоборот, когда некоторые больные со страхом смерти от надуманного рака силой заставляют себя много и часто есть, преодолевая даже отвращение к пище. Приводится пример, когда такая больная съедала до 0,5 кг сала в день [3, 6].

Частыми симптомами ПСР являются тошнота и рвота. Кроме отрицательных эмоций тошноту и рвоту могут вызывать и сильные положительные эмоции, в том числе радость. Психогенная тошнота нередко наблюдается у школьников перед контрольной работой, у артистов перед выходом на сцену, у студентов перед экзаменом, у ответственных работников перед выступлениями на различных мероприятиях и т. д. Тягостное ощущение тошноты или легкого подташнивания локализуется, как правило, в верхней части грудной клетки, «у горла» или «идет от живота». Больных мучает ощущение тошноты, которое «невозможно передать словами», «душу тянет, мутит, выворачивает». Психогенная тошнота может сопровождаться изжогой, не поддающейся диете. Порой тягостное ощущение тошноты вынуждает систематически вызывать рвоту (иногда по несколько раз в день). Психогенная рвота возникает преимущественно по утрам, до, во время или после еды, не зависит от количества и качества съеденной пищи, не поддается диетотерапии и не связана даже с самым грубым нарушением пищевого режима. Как и для других ПСР-симптомов, появлению тошноты предшествует снижение настроения, чувство физического и душевного дискомфорта и др. [3, 6, 14–16].

Нередко проявлениями ПСР являются обычные хронические запоры (стул реже 2 раз в неделю) и отсутствие удовлетворения от дефекации. Больные могут по несколько часов в сутки проводить в туалете, ставя себе ежедневно до 8 клизм, а некоторые из них для достижения полной дефекации механически раздражают анальную область, что приводит порой к кровотечению и выпадению прямой кишки. Одним из психогенных расстройств дефекации является эмоциональная диарея (понос), или «медвежья болезнь», которая возникает при внезапном испуге, напряженном ожидании чего-либо и при других ситуациях, вызывающих чувство острой тревоги и душевного дискомфорта. Учащение дефекации до 5–10 раз и более в сутки сопутствует значительному ухудшению самочувствия. У некоторых больных позывы к дефекации возникают после каждого приема пищи. Пациенты, у которых отмечаются неприятные ощущения в животе (тяжесть, урчание, распирающие колики и др.), предпочитают подтяжки вместо ремня и носят свободные в поясе брюки [3, 6, 12].

Частым симптомом являются боли в животе. Психогенные боли очень изменчивы, чрезвычайно лабильны по характеру (тянет, ноет, щемит, щиплет, сжимает, давит, скручивает, печет, распирает, пульсирует, переливается, сверлит, режет), интенсивности (от «смутного чувства живота» до острой схваткообразной и даже «кинжальной» боли с помрачением сознания) и локализации (от болей в одной точке до разлитой боли в подложечной, подвздошной и подреберных об-

ластях и миграции ее по всему животу). Тягостные болевые ощущения пациенты характеризуют так: «то нудно ноет, то дерет», «то горит, то холодеет, как от мятных капель», «то будто прилипло что-то, то давит как туго затянутый ремень», «дергает, как нарыв», «щекочет, как фурункул», «болит, точно тупым предметом режут», «покалывает как иголочками», «огнем горит», «распирает, будто разрывается что-то». Абдоминальные боли у некоторых больных усиливаются после еды. Характерно, что самое безупречное диетическое питание может ухудшить состояние пациентов, а пряная, соленая или кислая пища может вызвать чувство удовольствия [3, 6, 16].

Много беспокойства и тревожных мыслей доставляет больным выраженный метеоризм, нередко сопровождающийся выраженным болевым синдромом, причиной которого являются спазмы и (или) значительное растяжение кишечника. Фиксация внимания пациентов на длительно сохраняющейся абдоминальной симптоматике может приводить к тяжелой ипохондрии и канцерофобии. Они панически боятся запоров и поносов, острого аппендицита и холецистита, желудочного кровотечения и кишечной непроходимости, пищевой аллергии и злокачественной опухоли. Больные ежедневно ощупывают себя и рассматривают в поисках новых симптомов какого-то тяжелого заболевания. Такие пациенты годами лечатся по поводу хронического гастрита и дуоденита, хронического холецистита, колита и др. Многие из них испытывают потребность подробно рассказывать об особенностях своего пищеварения [14–16].

**Расстройства со стороны отдельных органов пищеварения. Язык.** Иногда больные предъявляют жалобы на жжение в языке, чувство постоянного зуда в сочетании с «неловкостью» и «неповоротливостью» языка, горький или металлический вкус во рту, глоссодинию (колющая, жгучая либо стреляющая боль в языке) [6, 12].

**Пищевод.** Следствием гиперестезии слизистой пищевода являются признаки саднения за грудиной, ощущения инородного тела, стеснения либо жжения по ходу пищевода, которые могут иррадиировать в лопатку, позвоночник, шею, нижнюю челюсть. Эти симптомы появляются либо резко усиливаются при прохождении по пищеводу плотного пищевого комка. Не слишком горячая пища может показаться обжигающей, а еле заметное повреждение слизистой пищевода тончайшей рыбной косточкой или крошкой сухаря может причинить «страшную боль» [8, 12].

Частым нарушением являются спастические сокращения пищевода, которые сопровождаются затрудненным глотанием, ощущениями мучительного стягивания, кома или инородного тела в глотке или за грудиной. Одной из причин развития локального или диффузного эзофагоспазма является канцерофобия с тревожным ожиданием роковых симптомов, особенно после смерти родственника или знакомого от рака пищевода. В развитии эзофагоспазма имеют также значение опасения подавиться или захлебнуться во время еды, боязнь горячей или плотной пищи, которая вызывает или усиливает болезненные ощущения по ходу пищевода, ипохондрическая фиксация на области глотки у больных с действительным или мнимым тонзиллитом или фарингитом. Жалобы на затрудненное глотание могут сочетаться с довольно резкими болезненными ощущениями за грудиной, иррадирующими в эпигастральную область, по ходу межреберных промежутков, в спину, руки и даже в нижнюю челюсть. Дисфагия характеризуется выраженной вариабельностью симптоматики: то никакая пища не проходит, то твердая проходит лучше жидкой, то полностью восстанавливается нормальная проходимость пищевода. Эти расстройства нередко сопровождаются отрыжкой или изжогой, а также пищеводной рвотой без типичного кислого желудочного запаха. Частным проявлением эзофагоспазма является кардиоспазм. Болезненные ощущения за грудиной при кардиоспазме нередко иррадиируют в левое плечо, имитируя приступы стенокардии, которые могут купироваться нитроглицерином, снимающим спазм гладкой мускулатуры пищевода. Кроме спазмов пищевода возможна и его атония с жалобами на затруднение глотания плотной пищи, чувство остановки ее за грудиной, ощущение инородного тела и давления в этой области; жидкость проходит свободно. Атония кардиально-го отдела пищевода обуславливает возникновение гастро-эзофагеального рефлюкса с развитием изжоги, а в дальнейшем – рефлюкс-эзофагита с образованием эрозий и язв [3, 6, 16].

**Желудок.** Гиперестезия слизистой желудка порождает чувство тяжести в нем даже натощак и переполнение его после первых глотков жидкой или плотной пищи. Иногда острая боль в эпигастрии отмечается сразу после проглатывания ломтика копченой колбасы. Физиологические

«голодные» сокращения желудка натошак, начинающиеся через каждые 1–1,5 ч в норме, воспринимаются пациентами с ПСР как «голодные боли». Характерным симптомокомплексом у подавляющего большинства больных является синдром раздраженного желудка. Он проявляется болью в подложечной области (от неясной, смутной, гнетущей до очень сильной, схваткообразной). Могут отмечаться аэрофагия, усиленное слюноотделение, тяжесть, давление, распирающие, переполнение в подложечной области, очень быстрая насыщаемость, тошнота и отрыжка [3, 6, 15].

*Желчевыводящие пути.* Одним из проявлений ПСР могут быть психогенные дискинезии желчевыводящих путей, проявляющиеся болью в правом подреберье, которая может быть как неопределенной, нудной, тупой, ноющей, без четкой иррадиации, длительностью от нескольких часов до нескольких дней (при гипотонии и гипокинезии желчного пузыря), так и острой, схваткообразной, порой отдающей в правое плечо, правую лопатку или ключицу (при гипертонии и гиперкинезии желчного пузыря), обычно кратковременной, но иногда повторяющейся несколько раз в сутки. Психогенные дискинезии желчевыводящих путей могут быть причиной хирургического удаления желчного пузыря, а сохраняющиеся после операции симптомы нередко расцениваются врачами как постхолецистэктомический синдром. Иногда может отмечаться доброкачественное функциональное повышение уровня билирубина в крови с возможным переходящим окрашиванием кожи и склер в желтоватый цвет [3, 6, 12].

*Кишечник.* Психическая гиперестезия обуславливает повышение рефлекторной двигательной активности тонкого и толстого кишечника. Больные при этом испытывают тягостное чувство перистальтики со вздутием живота и урчанием в нем. Нередко боли нарастают через 10–15 мин после еды и сопровождаются чувством давления в аноректальной области, что воспринимается как следствие неполной дефекации и очередной позыв к ней. У 50–70 % пациентов, обращающихся к врачам с жалобами на желудочно-кишечные расстройства, диагностируется синдром раздраженной толстой кишки. Характер болей варьируется от смутной, неясной, глухой, ноющей или колющей боли до острой сверлящей, режущей и даже стреляющей, длительностью от нескольких минут до нескольких часов, а порой и дней. Больные испытывают постоянное чувство дискомфорта, тяжести, давления и распирания в животе, которое может сменяться внезапно возникающими нерегулярными приступами кишечной колики. Эти мучительные ощущения появляются то в одной, то в другой области (в связи с локальными спазмами кишечника), но могут распространяться и по всему животу, иррадируя в поясничную область, левую половину грудной клетки и за грудинное пространство. Болезненные ощущения усиливаются после еды, бессонной ночи, под влиянием психотравмирующих обстоятельств, негативных переживаний. Они сохраняются или несколько ослабевают после дефекации, уменьшаются или исчезают в покое, могут полностью исчезнуть при изменении обстановки (в частности, во время отпуска). Абдоминальные боли нередко сопровождаются локальным или диффузным метеоризмом, громким урчанием в животе. У лиц астенической конституции можно наблюдать волны кишечной перистальтики под передней брюшной стенкой. Встречаются спастические запоры с лентообразным или с подобным овечьему калом, сменяющиеся компенсаторной диареей. Поносы могут возникать на высоте эмоционального напряжения, по утрам, после каждого приема пищи. Возможна примесь слизи к фекалиям или даже выделение ее в виде комочков, пленок. Иногда наблюдается проктомиксорейя – приступообразное выделение слизи из прямой кишки. Считается, что при ПСР количество слизи в толстом кишечнике является своеобразным барометром эмоционального состояния человека [3, 6, 12, 14–16].

*Расстройства мочеиспускания.* Одним из урологических симптомов у больных с ПСР является поллакиурия – учащенное (иногда до 10 раз в час) и нередко болезненное мочеиспускание. Резко учащенное мочеиспускание при отсутствии заболеваний мочевого пузыря рассматривается как признак так называемого раздраженного мочевого пузыря. Встречаются нарушения мочеиспускания в виде затрудненного, прерывистого, «толчкообразного» или «вялого», по каплям, мочеиспускания, длительность которого достигает порой 15–20 мин. Некоторые больные не могут помочиться в присутствии других людей. Описан так называемый «заикающийся» мочевой пузырь (внезапное прерывание струи мочи один или несколько раз за одно мочеиспускание) [6, 14].

У больных с ПСР могут также наблюдаться недержание мочи и никтурия. Пациенты жалуются на чувство тяжести в мочевом пузыре, где как бы осталась «капелька мочи». В литературе приведен случай, когда больная перед сном по 60 раз посещала туалет, потому что у нее было чувство, что она не вполне «вымочилась». Другим проявлением нарушений мочевого выведения является полиурия. Психогенная полиурия может сочетаться с полидипсией (увеличением потребления жидкости), что иногда может имитировать клиническую картину сахарного или несахарного диабета. Кроме полиурии может наблюдаться и олигурия вследствие уменьшения объема выпиваемой жидкости. Боязнь смерти от остановки или разрыва сердца вынуждает больных ограничивать себя в питье для уменьшения объема циркулирующей крови и снижения таким образом нагрузки на сердечно-сосудистую систему [6, 14, 15].

У некоторых пациентов отмечается цисталгия – учащенное и болезненное мочеиспускание, которое при отсутствии других клинических признаков урологического заболевания может быть проявлением раздраженного мочевого пузыря. Выраженная цисталгия наблюдается почти исключительно у женщин. По некоторым данным, у 25 % женщин с симптомами цистита не обнаруживаются признаков воспалительного процесса. Цисталгия и уретральный синдром (периодическое покалывание или неприятное «щекотание» в мочеиспускательном канале, чувство резкого напряжения стенок уретры, перерастающее в «ужасное страдание», болезненность и резь при мочеиспускании, частые позывы к мочеиспусканию, недержание мочи, боли в области таза) являются порой основанием для назначения врачами массивной антиинфекционной терапии, в том числе вливания в пузырь прижигающих и дезинфицирующих средств, и проведения новокаиновых блокад. При этих состояниях пациенты испытывают «страшную» боль при катетеризации мочевого пузыря. Этим больным выскабливали слизистую оболочку мочевого пузыря, производили резекцию его шейки, пересекали промежностную ветвь срамного нерва, насильственно расширяли уретру, накладывали надлобковый свищ мочевого пузыря, бужировали, прижигали и даже резецировали уретру или иссекали ее слизистую оболочку [6, 12].

Многие пациенты отмечают выраженный дискомфорт в области предстательной железы («словно гиря подвешена»). Изменения в предстательной железе трактуются как асептический (безмикробный) псевдопростатит. Пальцевое исследование железы через прямую кишку зачастую вызывает острые болезненные ощущения, которые могут иррадиировать в головку полового члена; в ряде случаев даже легкое прикосновение пальца воспринимается как нестерпимая боль. Кроме указанных расстройств пациенты жалуются на разнообразные тягостные ощущения – от неопределенной боли в поясничной области («не то пульсирует, не то давит что-то») и чувства тяжести в почках или мочевом пузыре до выраженных болевых ощущений. Больные описывают тупую, ноющую и даже «страшную, дикую» боль (режет, колет, стреляет), которая делает их жизнь невыносимой. Особенно часты жалобы на тяжесть и тупую боль в промежности, на «непередаваемые словами» ощущения щекотания, зуда, жжения или покалывания в тазовой области и др. Указанные ощущения нередко ложатся в основу развития ипохондрического синдрома. При этом могут иметь место самопроизвольное недержание мочи, например выделение нескольких ее капель при смехе или физическом перенапряжении у женщин; обильное мочеотделение после сильного «душевного волнения»; выделение небольшого количества песка или необычный цвет мочи, показавшейся больному слишком мутной, темной или, наоборот, светлой; изменение привычных «силы и калибра струи» или пугающее ощущение легкого жжения при мочеиспускании и т. д. Длительная ипохондрическая фиксация внимания больных на затрудненном и болезненном мочеиспускании приводит к тому, что прогрессирующее затруднение мочеиспускания, когда моча выделяется после большого напряжения тонкой струей, а иногда только каплями, нередко с болью в надлобковой области, отдающей вдоль мочеиспускательного канала, достигает порой степени полной невозможности произвольного опорожнения мочевого пузыря, в связи с чем необходима регулярная катетеризация последнего [3, 6, 14].

**Сексуальные расстройства.** *Сексуальные расстройства у мужчин.* Среди психогенных сексуальных расстройств выделяют снижение либидо, ослабление эрекции, страх перед половым актом, преждевременную эякуляцию, при которой семяизвержение происходит после 2–15 фрикций или даже предшествует началу полового акта. К числу тяжелых расстройств относится пси-

хический асперматизм – отсутствие эякуляции и оргазма при сохраненных либидо и эрекции. Частым является снижение половой потенции вплоть до развития психогенной импотенции, от которой больные иногда не могут избавиться годами. Этому могут способствовать небрежно брошенные врачами или окружающими реплики в адрес половой сферы больного типа «проблемная у вас простата», «так недалеко и импотентом стать», «какой ты мужчина?» [6, 8, 12].

У пациентов может отмечаться извращение полового чувства. Ощущения, ассоциируемые ранее с половым возбуждением, начинают восприниматься как болезненно неприятные. Так, например, закинутое на ногу больного бедро женщины при попытке полового акта воспринимается как «свинцовая тяжесть» или «мельничный жернов», а голова женщины на груди «тяжелым грузом наваливается на сердце и мешает ему биться» [3, 6, 16].

Нередким симптомом является боль во время эрекции. Одна мысль о предстоящей половой близости ведет к снижению или исчезновению эрекции перед самым началом полового акта. Боязнь резкого усиления болезненных ощущений при эрекции и эякуляции постепенно перерастает в стойкий страх половых контактов (коитусофобию) с полным отказом от половой жизни [3, 6, 15].

Другим проявлением психогенных сексуальных расстройств являются поллюции. Иногда они возникают под влиянием сильного эмоционального возбуждения (страха, гнева и др.), значительного умственного напряжения, не связанного с эротическими представлениями. Описан, например, случай обильного извержения семени у студента, испугавшегося промчавшегося рядом поезда. Учащенные (ежедневные или через день, а порой и по несколько раз за ночь даже после полового акта) поллюции нередко сочетаются с заметным ослаблением, а иногда и полным отсутствием эрекции или оргазма и жалобами на разбитость, тяжесть в голове, «апатию к труду», «дурное настроение». Даже нормальные поллюции становятся зачастую объектом ипохондрической фиксации больных, испытывающих панический страх перед «угрозой потери семени» или тяжелыми заболеваниями, вызывающими это явление, что способствует дальнейшему учащению поллюций [3, 6].

Тяжело воспринимается больными сперматорея – периодическое выделение спермы вне связи с эротическими представлениями, предшествующей эрекцией или оргазмом в результате ослабления мышечного тонуса семявыбрасывающих протоков, проходящих через предстательную железу. Аффективные сексуальные расстройства выражаются также в возникновении застойных явлений в предстательной железе. Это сопровождается, в частности, простатореей – выделением нормального, неизмененного секрета простаты по утрам (особенно при дефекации и в конце мочеиспускания). Рядом больных это явление расценивается как признак резкого ослабления или даже полного истощения организма, что вызывает у них в панику. Иногда отмечается уретрорея – выделение из уретры нескольких капель бесцветной, тягучей стекловидной жидкости при повышении секреции уретральных желез. Ипохондрическая фиксация на уретрорею может быть одной из причин развития психогенной импотенции [3, 6, 14].

Пациенты с аффективными сексуальными расстройствами жалуются на тяжесть и «усталость в спине», тупую боль в паховой, надлобковой и пояснично-крестцовой областях, неприятные ощущения в области крестца, бедер и половых органов (ноет, щемит, давит, зудит, жжет, дергает, покалывает, немеет), страдают от тягостного зуда и жжения по ходу мочеиспускательного канала («хочется почесать в уретре»), отмечают тяжесть, давление и стягивание в промежности, ощущение инородного тела в прямой кишке, которое порой мешает сидеть. Такие больные воздерживаются от резких движений, длительных поездок в городском транспорте, предпочитают носить свободную и легкую одежду [3, 6, 16].

Одним из проявлений болевых ощущений является синдром раздраженного яичка. Приступы очень сильной боли, захватывающей иногда и поясничную область, сопровождаются судорожным сокращением *musculus cremaster*, в связи с чем яичко подтягивается, а половой член «съеживается». Сильные боли при этом могут сопровождаться мучительными ощущениями зуда и жжения в мошонке или жгучей болью по ходу мочеиспускательного канала. Иногда для ликвидации нестерпимой боли по требованию больных производили операции по удалению яичка, однако облегчения они не приносили [3, 6, 14–16].

*Сексуальные расстройства у женщин.* К аффективным сексуальным расстройствам у женщин относится фригидность (отсутствие полового влечения и специфического сладострастного чувства). Безразличие, а то и откровенно негативное отношение к ставшему «обязанностью» половому акту порождает явное раздражение перед его совершением («скорей бы уже, что ли»). Резкая гиперестезия слизистой оболочки влагалища обуславливает локальную боль в начале полового акта и сочетается, как правило, с потерей теплого чувства и влечения к мужу или даже отвращением к нему. Подавляющее большинство больных женщин чуть ли не на коленях умоляют мужей «не трогать их», «криком кричат» при попытках полового сближения, когда их «словно иголками колют», «точно ножом режут», «как раскаленным железом жгут». При одной мысли о возможности интимной близости, при одном виде мужа, при одном упоминании о нем или о мужчинах вообще у них возникает чрезвычайно болезненный спазм мышц влагалища и тазового дна. Выраженная диспареуния (боль при совокуплении) ведет порой к социальной инвалидизации молодых женщин, а крайняя степень диспареунии – вагинизм делает половую жизнь в принципе невозможной. В 1936 г. описан так называемый «эфирный брак», когда для совершения полового акта с целью беременности у женщин, страдающих вагинизмом, но одержимых страстной идеей иметь ребенка, использовали эфирный наркоз. Вагинизм возникает не только при попытке полового сближения, но и при гинекологическом обследовании, малейшем прикосновении к половым органам или ожидании этого прикосновения, а также при приближении гинеколога или любого другого мужчины [3, 6].

Фригидность, диспареуния и вагинизм нередко лежат в основе так называемого психосоматического бесплодия – стерильного брака при отсутствии каких-либо необратимых патологических изменений, препятствующих зачатию и нормальному вынашиванию плода. Причинами стерильного брака могут быть психогенный спазм маточных труб или невозможность имплантации уже оплодотворенной яйцеклетки вследствие резко повышенного тонуса матки. Чем острее страх и тревога женщины, больше ее аффективная напряженность, в частности страх неудачи, связанный с ожиданием беременности, тем меньше вероятность зачатия и благополучного вынашивания плода. Психосоматическое бесплодие может быть связано не только с женским организмом, но и с мужским. Психогенные нарушения эрекции и эякуляции у мужей могут обусловить бесплодие в рамках семьи, однако при этом у многих из них сохраняется способность оплодотворения других женщин [3, 6, 16].

Одним из проявлений ПСР у женщин является предменструальный синдром, или синдром предменструального напряжения, характеризующийся весьма полиморфной симптоматикой: снижением настроения, тревогой и внутренним беспокойством, чувством душевной и физической угнетенности, недомоганием и дискомфортом, расстройством сна (в частности, кошмарными сновидениями), повышенной раздражительностью к окружающим и даже появлением суицидальных мыслей. В этот синдром включаются и другие проявления ПСР – сердечно-сосудистые, дыхательные, пищеварительные, мочеполовые [3, 6, 14, 15].

Другим проявлением ПСР у женщин является психогенная дисменорея, встречающаяся, как правило, у эмоционально нестабильных женщин с повышенной тревожностью. К развитию психогенной дисменореи приводят тревожное ожидание очередной менструации (своеобразный «невроз ожидания», возникающий после душевного потрясения при первой менструации у неподготовленных к ней девушек), панический страх беременности, боязнь аборта и др. При психогенной дисменорее больные ощущают тянущую, неопределенного характера, иногда схваткообразную боль в нижних отделах живота и пояснично-крестцовой области, возникающую преимущественно за 1–2, реже за 5–6 дней до начала менструации, которая прекращается на 2-й день, хотя может сохраняться до ее полного окончания. Некоторые женщины отмечают так называемые маточные колики. Этим ощущениям всегда сопутствуют головная боль (чаще в виде мигрени), сердечно-сосудистые, желудочно-кишечные и другие расстройства [3, 6, 14–16].

Довольно распространенным нарушением является психогенная аменорея, т. е. прекращение месячных на протяжении 6 мес. и более. Психогенная аменорея часто возникает в результате острых стрессовых ситуаций. Известно, что у узниц Освенцима «лагерная аменорея» развива-

лась почти у 100 % женщин и сохранялась у 86 % из них на протяжении 1–5 лет после освобождения. Психогенная аменорея у женщин, одержимых «идеей материнства», иногда ложится в основу синдрома мнимой или ложной беременности. Такие женщины тщательно ищут у себя симптомы беременности и находят их в виде тошноты и рвоты после еды, нагрубания молочных желез с выделением молозива, усиления пигментации вокруг сосков. Повышенная перистальтика кишечника воспринимается ими как ощущение шевеления плода. У них могут возникать «схватки» с невероятным напряжением брюшного пресса. Иногда такие больные поступают в гинекологические отделения стационаров с подозрением на внематочную беременность или угрозу выкидыша, но уже через 2–3 дня их выписывают в связи с отсутствием беременности. Бывает, что гормональный тест дает слабоположительную реакцию на беременность. Приводится даже случай, когда больная при синдроме ложной беременности получила декретный дородовой отпуск [3, 6, 14–16, 18].

**Кожные проявления.** Наряду с уже упоминавшимися проявлениями кожной гиперестезии, которая порой делает невозможным врачебное обследование и может приводить к ожогам от чуть нагретых предметов или даже при штриховом раздражении кожи спины прядью волос, у пациентов с ПСР часто наблюдается локальный или генерализованный зуд, крапивница. При этом больные постоянно чешутся, что способствует образованию расчесов и корочек, моют кожу дезинфицирующими и антисептическими средствами, считая, что зуд связан с каким-то загрязнением кожи, инфекцией. Особенно мучительным является аногенитальный зуд. Иногда он настолько нестерпим, что может доводить человека до суицидальных попыток. Описан случай, когда больная с крапивницей была твердо убеждена в том, что заразилась от женщины с сыпью на теле, с которой она столкнулась в дверях туалета [3, 6, 12, 14].

Нередкими жалобами являются чувство зябкости, покалывание, щекотание, пощипывание, царапание, «ползание мурашек», жар и сильное жжение при чрезмерном потоотделении, выраженное увеличение потливости при незначительной физической нагрузке, после горячей еды и питья, резкая бледность или покраснение лица, разлитая или пятнистая эритема (покраснение) на теле, «гусиная кожа», локальный гипергидроз (повышенная потливость) в области ладоней, стоп, лба, подмышечных впадин, паховых складок, промежности, под молочными железами, между пальцами ног, способствующий образованию потертостей, опрелостей, различных воспалительных процессов, в том числе грибковых заболеваний. В ряде случаев может наблюдаться и снижение потоотделения. Для многих пациентов характерна извращенность рефлекторных реакций кожи на внешние раздражители в виде расширения сосудов кожи вместо их сужения под влиянием холода или, наоборот, их сужение при действии тепла. У больных может отмечаться аномальная метеочувствительность, проявляющаяся повышенной зябкостью, онемением, жжением, зудом, жгучей болью в области кистей рук и стоп при незначительном и непродолжительном охлаждении осенью и зимой. Такие пациенты испытывают паническую боязнь сквозняков и открытых форточек [3, 6, 12].

У некоторых больных наблюдается кровавый пот – гематидроз (выделение крови через кожу) с возможными подкожными кровоизлияниями, иногда сочетающийся с появлением кровавых слез (отмечается довольно редко, чаще у молодых женщин на пике истерического припадка) [6, 15].

Нередкими являются признаки старения кожи: снижение эластичности, повышение сухости и морщинистости, шелушение, образование трещин, эрозий и даже язв. Иногда отмечаются изменения пигментации кожи: может появиться очаговая депигментация или гиперпигментация. В некоторых случаях развивается диффузное потемнение кожи (человек «чернеет с горя») [3, 6, 16].

У ряда больных на пике аффективных расстройств может появляться своеобразный, иногда весьма неприятный запах, связанный с выделением кожей особых пахучих веществ [3, 6].

Со стороны волос у многих пациентов отмечаются тусклость, безжизненность, ломкость, расщепление на конце с образованием кисточки, обесцвечивание (поседение с возможным последующим восстановлением цвета), выпадение (очаговое, диффузное или тотальное), гипертрихоз. Описано, например, очаговое облысение у ребенка 8 лет после повторяющегося кошмарного сна, в котором недавно умерший дедушка звал его к себе, схватив за волосы. Иногда отмечается трихотилломания – неодолимое влечение к выдергиванию волос, связанное с тягостными телесными ощущениями, прежде всего с зудом кожи [3, 6, 11].

Изменениям могут подвергаться и ногти. Отмечается их тусклость, неравномерность окраски, истончение или утолщение, ломкость, расслоение, шероховатость, бугристость, появление продольной или поперечной исчерченности; они могут легко крошиться. Иногда встречаются онихофагия, онихотилломания (механическое повреждение ногтевых пластинок путем постоянного надавливания на них ногтем другого пальца) [3, 6, 15].

**Принципы лечения пациентов с ПСР и возможности аутопсихокоррекции.** Главное в лечении пациентов с ПСР – это отвлечь их внимание от объектов ипохондрической фиксации и постараться обеспечить переключение на саногенное (оздоравливающее) мышление, устранение негативных мыслей, нормализацию эмоционального состояния с помощью психотерапии и (или) психофармакологических средств (транквилизаторы, антидепрессанты и др.). Ключевое значение, конечно, принадлежит слову, т. е. психотерапии, включая и новейшие компьютерные психотехнологии, потому что патогенез ПСР носит исключительно психогенный (информационно-психический) характер [3, 6, 19–24]. Врачу не всегда удастся подобрать ключ к психике конкретного больного с целью обеспечения эффективного внешнего психоуправления для купирования ПСР, хотя это целиком зависит от уровня квалификации и профессионализма врача (ключ же можно подобрать к психике любого человека). Что же касается психофармакологических средств, то в настоящее время для лечения пациентов с ПСР они используются достаточно широко и применяются одновременно с технологиями психотерапии [6, 13, 14–16, 25, 26]. Однако не надо забывать, что используемые в лечении пациентов с ПСР психофармакологические средства, как и почти любое лекарство, являются «палкой о двух концах», вызывая порой серьезные негативные побочные эффекты. Конечно, при особенно тяжелых формах ПСР купировать проявления «болезни» без лекарств чрезвычайно сложно или даже невозможно. В то же время необходимо иметь в виду, что в ряде случаев справиться с ПСР под силу и самому больному. Так, например, автор данной статьи смог избавиться от ПСР без лекарств. Несколько лет назад в течение ряда месяцев у него наблюдалась выраженная полиморфная симптоматика в абдоминальной области с ипохондрической фиксацией внимания на ней. По клиническим проявлениям можно было заподозрить множество болезней – от гастрита, панкреатита, колита, эрозивно-язвенных повреждений пищевода, язвенной болезни желудка и двенадцатиперстной кишки с пенетрацией в соседние органы до онкологического заболевания в брюшной полости. Постоянные мысли о возможном тяжелом заболевании привели к снижению социально-трудовой активности, интереса к жизни. Диета, прием в течение двух месяцев противоязвенных лекарственных средств заметно не повлияли на выраженность клинических симптомов. Последующее проведение УЗИ органов брюшной полости, фиброгастродуодено- и колоноскопии не выявило патологических изменений, которые могли бы вызвать такую симптоматику. После этого автор перестал обращать внимание на сохраняющиеся симптомы, и через несколько дней они бесследно исчезли. Таким образом, после того как исчезли патогенные мысли ипохондрического содержания, исчезли и все клинические симптомы ПСР, что еще раз убедительно подтверждает чисто психогенный характер патогенеза ПСР и роль «вектора» мыслей в их возникновении. Самое же лучшее лекарство от ПСР – это хорошее настроение. Если человек может создавать себе хорошее настроение – значит он может эффективно противостоять этому весьма распространенному недугу.

**Заключение.** Таким образом, имея даже самые общие представления о проблеме ПСР, можно самому постараться сделать все, чтобы минимизировать риски их возникновения. Для этого стоит лишь попытаться понять, что и почему с тобой происходит и как нужно действовать, чтобы обеспечить эффективное избавление от ПСР, которые порождают массу проблем.

**Конфликт интересов.** Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

#### Список использованных источников

1. Комплексный план действий в области психического здоровья на 2013–2020 гг. [Электронный ресурс]. – Режим доступа : <https://apps.who.int/iris/handle/10665/151502>. – Дата доступа : 05.02.2015.
2. Андреева, М. Ф. Переписка. Воспоминания. Статьи. Документы / М. Ф. Андреева. – М. : Искусство, 1968. – 796 с.
3. Александер, Ф. Психосоматическая медицина. Принципы и практическое применение / Ф. Александер. – М. : ЭКСМО-Пресс, 2002. – 352 с.

4. Мостовая, Л. И. Современные представления о психосоматических расстройствах / Л. И. Мостовая, Н. Ю. Кувшинова // Изв. Самар. науч. центра Рос. акад. наук. – 2011. – Т. 13, № 2–3. – С. 602–605.
5. Родермель, Т. А. Психологический взгляд на причины происхождения психосоматических заболеваний / Т. А. Родермель, Е. А. Шумилова // Междунар. журн. прикл. и фундамент. исследований. – 2016. – № 8, ч. 2. – С. 180–184.
6. Тополянский, В. Д. Психосоматические расстройства / В. Д. Тополянский, М. В. Струковская. – М. : Медицина, 1986. – 384 с.
7. Bennett, A. E. Role of iatrogenesis in diagnosis, prognosis and treatment in psychiatry / A. E. Bennett // *Dis. Nerv. Syst.* – 1971. – Vol. 32, N 9. – P. 627–631.
8. Сандомирский, М. Е. Психосоматика и телесная психотерапия : практ. рук. / М. Е. Сандомирский. – М. : Независимая фирма «Класс», 2005. – 592 с.
9. Бобров, А. Е. Проблема психосоматических соотношений и некоторые методологические вопросы психопатологии / А. Е. Бобров // *Соц. и клин. психиатрия.* – 2017. – Т. 27, № 1. – С. 98–103.
10. Фусу, Л. И. Социальные и психологические аспекты психосоматических расстройств у больных депрессией с сопутствующей зависимостью от наркотических веществ / Л. И. Фусу // *Дневник Казан. мед. школы.* – 2017. – № 4. – С. 81–87.
11. Макдугалл, Д. Театры тела. Психоаналитический подход к психосоматическим расстройствам / Д. Макдугалл. – М. : Когито-Центр, 2007. – 215 с.
12. Пезешкиан, Н. Психосоматика и позитивная психотерапия / Н. Пезешкиан. – М. : Ин-т позитив. психотерапии, 2006. – 464 с.
13. Симптомы и маски. Психосоматические и соматопсихические расстройства у детей. XV междисциплинарная конф. «Вейновские чтения». Сателлитный симпозиум компании «Материя Медика» // *Эффективная фармакотерапия.* – 2019. – Т. 15, № 14. – С. 80–88.
14. Белялов, Ф. И. Психосоматика / Ф. И. Белялов. – М. : ГЭОТАР-Медиа, 2018. – 344 с.
15. Кулаков, С. А. Основы психосоматики / С. А. Кулаков. – СПб. : Речь, 2003. – 288 с.
16. Старшенбаум, Г. В. Психосоматика и психотерапия: Исцеление души и тела / Г. В. Старшенбаум. – М. : Изд-во Института психотерапии, 2005. – 496 с.
17. Oppenheim, H. *Lehrbuch der Nervenkrankheiten für Ärzte und Studierende* / H. Oppenheim. – Berlin : S. Karger, 1894. – 870 s.
18. Хохлов, Л. К. Спор «психиков» и «соматиков». Эволюция представлений о психосоматических и соматопсихических соотношениях / Л. К. Хохлов // *Соц. и клин. психиатрия.* – 2019. – Т. 29, № 2. – С. 79–85.
19. Сельченко, К. В. Ключ к будущему : практ. рук. для пользователя арттехнол. психопроектора / К. В. Сельченко. – Минск : Харвест, 2004. – 768 с.
20. Смирнов, И. В. Психотехнологии. Компьютерный психосемантический анализ и психокоррекция на неосознаваемом уровне / И. В. Смирнов, Е. В. Безносюк, А. Н. Журавлев. – М. : Прогресс-Культура, 1995. – 416 с.
21. Латынин, О. А. К вопросу диагностики и терапии психосоматических расстройств / О. А. Латынин // *Центр науч. вестн.* – 2017. – Т. 2, № 3. – С. 30–34.
22. Менделевич, Е. Г. Соматизация тревожных расстройств в практике невролога: алгоритмы и подходы к дифференцированному лечению / Е. Г. Менделевич // *Неврология, нейропсихиатрия, психосоматика.* – 2014. – № 4. – С. 81–86.
23. Психосоматические расстройства в клинической практике / под ред. А. Б. Смулевича. – М. : МЕДпресс-информ, 2016. – 776 с.
24. Чикуров, Ю. В. Практическая психосоматика / Ю. В. Чикуров. – М. : Триада-Х, 2019. – 185 с.
25. Starcevic, V. The reappraisal of benzodiazepines in the treatment of anxiety and related disorders / V. Starcevic // *Expert. Rev. Neurother.* – 2014. – Vol. 14, N 11. – P. 1275–1286. <https://doi.org/10.1586/14737175.2014.963057>
26. The best next drug in the course of generalized anxiety disorders: The “PN-GAD-algorithm” / M. Linden [et al.] // *Int. J. Psych. Clin. Pract.* – 2013. – Vol. 17, N 2. – P. 78–89. <https://doi.org/10.3109/13651501.2012.722645>

## References

1. *Comprehensive plan of action in mental health for the years 2013–2020.* Available at: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/151502> (accessed 05.02.2015) (in Russian).
2. Andreeva M. F. *Letters. Memoris. Articles. Documents.* Moscow, Iskusstvo Publ., 1968. 796 p. (in Russian).
3. Aleksander F. *Psychosomatic medicine. Principles and practical application.* Moscow, EKSMO-Press Publ., 2002. 352 p. (in Russian).
4. Mostovaya L. I., Kuvshinova N. Y. Present-day views of psychosomatic disorders. *Izvestiya Samarskogo nauchnogo tsentra Rossiiskoi akademii nauk* [Proceedings of Samara Research Center of the Russian Academy of Sciences], 2011, vol. 13, no. 2–3, pp. 602–605 (in Russian).
5. Rodermel’ T. A., Shumilova E. A. Psychological view of causes of the origin of psychosomatic diseases. *Mezhdunarodnyi zhurnal prikladnykh i fundamental’nykh issledovaniy* [International journal of applied and fundamental research], 2016, no. 8, pt. 2, pp. 180–184 (in Russian).
6. Topolyanskii V. D., Strukovskaya M. V. *Psychosomatic Disorders.* Moscow, Meditsina Publ., 1986. 384 p. (in Russian).
7. Bennett A. E. Role of iatrogenesis in diagnosis, prognosis and treatment in psychiatry. *Diseases of Nervous System*, 1971, vol. 32, no. 9, pp. 627–631.

8. Sandomirskii M. E. *Psychosomatics and Bodily Psychotherapy*. Moscow, Nezavisimaya firma “Klass”, 2005. 592 p. (in Russian).
9. Bobrov A. E. Problem of psychosomatic relations and some methodological issues of psychopathology. *Sotsial'naya i klinicheskaya psikiatriya* [Social and clinical psychiatry], 2017, vol. 27, no. 1, pp. 98–103 (in Russian).
10. Fusu L. I. Social and psychological aspects of psychosomatic disorders in patients with depression with concomitant addiction to drugs. *Dnevnik Kazanskoi meditsinskoi shkoly* [Dairy of Kazan medical school], 2017, no. 4, pp. 81–87 (in Russian).
11. McDougall J. *Théâtres du corps: le psychosoma en psychanalyse*. Paris, Gallimard, 1989. 220 p. (in French).
12. Pezeshkian N. *Psychosomatics and Positive Psychotherapy*. Moscow, Institute of Positive Psychotherapy Publ., 2006. 464 p. (in Russian).
13. Symptoms and masks. Psychosomatic and somatopsychic disorders in children. XV Interdisciplinary Vein conference. Satellite symposium of the Materia Medica Company. *Effektivnaya farmakoterapiya* [Effective pharmacotherapy], 2019, vol. 15, no. 14, pp. 80–88 (in Russian).
14. Belyalov F. I. *Psychosomatics*. Moscow, GEOTAR-Media Publ., 2018. 344 p. (in Russian).
15. Kulakov C. A. *Fundamentals of psychosomatics*. Sankt-Peterburg, Rech' Publ., 2003. 288 p. (in Russian).
16. Starshenbaum G. V. *Psychosomatics and psychotherapy: curing of the soul and the body*. Moscow, Institute of Psychotherapy Publishing House, 2005. 496 p. (in Russian).
17. Oppenheim H. *Guide in nervous diseases for doctors and students*. Berlin, S. Karger Publ., 1894. 870 p.
18. Khokhlov L. K. Debates of “psychics” and “somatics”. Evolution of views of psychosomatic to somatopsychic ratio. *Sotsial'naya i klinicheskaya psikiatriya* [Social and clinical psychiatry], 2019, vol. 29, no. 2, pp. 79–85 (in Russian).
19. Sel'chenok K. V. *Key to the future. Practical guide for user of artechnological psychoprocessor*. Minsk, Kharvest Publ., 2004. 768 p. (in Russian).
20. Smirnov I. V., Beznosyuk E. V., Zhuravlev A. N. *Psychotechnologies. Computer psychosemantic analysis and psychocorrection at subconscious level*. Moscow, Progress–Kul'tura Publ., 1995. 416 p. (in Russian).
21. Latynin O. A. On the diagnosis and therapy of psychosomatic disorders. *Tsentral'nyi nauchnyi vestnik* [Central scientific bulletin], 2017, vol. 2, no. 3, pp. 30–34 (in Russian).
22. Mendelevich E. G. Somatization of anxiety disorders in the practice of a neurologist: algorithms and approaches to differentiated treatment. *Nevrologiya, neuropsikiatriya, psikhosomatika* [Neurology, neuropsychiatry, psychosomatics], 2014, no. 4, pp. 81–86 (in Russian).
23. Smulevich A. B. (ed.). *Psychosomatic disorders in clinical practice*. Moscow, MEDpress-inform Publ., 2016. 776 p. (in Russian).
24. Chikurov Yu. V. *Practical psychosomatics*. Moscow, Triada-X Publ., 2019. 185 p. (in Russian).
25. Starcevic V. The reappraisal of benzodiazepines in the treatment of anxiety and related disorders. *Expert Review of Neurotherapeutics*, 2014, vol. 14, no. 11, pp. 1275–1286. <https://doi.org/10.1586/14737175.2014.963057>
26. Linden M., Bandelow B., Boerner R. J., Brassler M., Kasper S., Möller H. J., Pyrkosch L., Volz H. P., Wittchen H. U. The best next drug in the course of generalized anxiety disorders: The “PN-GAD-algorithm”. *International Journal of Psychiatry in Clinical Practice*, 2013, vol. 17, no. 2, pp. 78–89. <https://doi.org/10.3109/13651501.2012.722645>

### Інфармацыя аб аўторе

Семененя Ігорь Николаевич – д-р мед. навук, прафесар, дырэктар. Інстытут біохіміі біялагічна актыўных злучэнняў НАН Беларусі (бульвар Ленінскага камсомала, 50, 230030, г. Гродно, Рэспубліка Беларусь). E-mail: insemenya@yandex.by

### Information about the author

Igor N. Semenyenya – D. Sc. (Med.), Professor, Director. Institute of Biochemistry of Biologically Active Substances of the National Academy of Sciences of Belarus (50, BLK, 230030, Grodno, Republic of Belarus). E-mail: insemenya@yandex.by

ISSN 1814-6023 (Print)

ISSN 2524-2350 (Online)

УДК 616.37-002-02:616.37-008.8437

<https://doi.org/10.29235/1814-6023-2020-17-1-122-128>

Поступила в редакцию 16.07.2019

Received 16.07.2019

**Л. А. Можейко**

*Гродненский государственный медицинский университет, Гродно, Республика Беларусь*

## **РОЛЬ ДИСФУНКЦИИ ДУКТАЛЬНОЙ СЕКРЕЦИИ В ПАТОГЕНЕЗЕ ХРОНИЧЕСКОГО ПАНКРЕАТИТА**

**Аннотация.** В обзоре представлен анализ современных научных сведений о роли нарушения дуктальной секреции в патогенезе хронического панкреатита. Показано, что под влиянием алкоголя или других панкреатит-провоцирующих факторов повреждается CFTR-транспортный механизм протоковых клеток, что приводит к уменьшению секреции бикарбонатов и жидкости. Дегидратация и ацидификация способствуют гиперконцентрации белкового и слизистого компонентов панкреатического секрета, изменению его реологических свойств, затруднению дальнейшего транспорта по протоковой системе. Создавшиеся условия благоприятствуют образованию слизисто-белковых пробок и обтурированию протоков, что может играть важную роль в патогенезе хронического панкреатита на ранней стадии развития заболевания.

**Ключевые слова:** поджелудочная железа, хронический панкреатит, протоковые клетки, дуктальная секреция

**Для цитирования:** Можейко, Л. А. Роль дисфункции дуктальной секреции в патогенезе хронического панкреатита / Л. А. Можейко // Вест. Нац. акад. наук Беларуси. Сер. мед. наук. – 2020. – Т. 17, № 1. – С. 122–128. <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2020-17-1-122-128>

**Larisa A. Mozheiko**

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

## **ROLE OF THE DUCTAL SECRETION DYSFUNCTION IN THE PATHOGENESIS OF CHRONIC PANCREATITIS**

**Abstract.** The review presents an analysis of current scientific data on the role of ductal secretion disorders in the pathogenesis of chronic pancreatitis. It is shown that under the influence of alcohol or other provoking factors, the CFTR transport mechanism of duct cells undergoes damage, which leads to the decrease in the bicarbonate and fluid secretion. Dehydration and acidification contribute to the hyperconcentration of protein and mucous components of pancreatic secretion and to the change in its rheological properties, which complicates further transport through the ductal system. Current conditions are favorable for the formation of mucoprotein plugs and the ductal obstruction that may have an important role in the pathogenesis of chronic pancreatitis at the early stage of development of the disease.

**Keywords:** pancreas, chronic pancreatitis, duct cells, ductal secretion

**For citation:** Mozheiko L. A. Role of the ductal secretion dysfunction in the pathogenesis of chronic pancreatitis. *Vestsi Natsyonal'nei akademii navuk Belarusi. Seriya meditsinskikh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2020, vol. 17, no. 1, pp. 122–128 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2020-17-1-122-128>

**Введение.** Хронический панкреатит – тяжелое прогрессирующее заболевание поджелудочной железы, при котором повреждение паренхимы и стромы заканчивается функциональной недостаточностью органа [1–3]. В патологический процесс вовлекаются не только ацинусы, но и выводные протоки. На ранних этапах заболевания нарушение сложных механизмов секреторной деятельности железы приводит к изменению качественного и количественного состава панкреатического секрета [4]. Он становится более густым, вязким, характеризуется гиперконцентрацией белковых и слизистых компонентов. Это предрасполагает к образованию пробок, которые затем могут кальцифицироваться, обтурировать панкреатические протоки и способствовать прогрессированию хронического панкреатита [5–7]. Патогенез дисфункции дуктальной секреции и камнеобразования остается дискуссионным [8–10].

Цель обзора – проанализировать и обобщить научные сведения о роли дисфункции дуктальной секреции в патогенезе хронического панкреатита.

Как известно, дуктальный (протоковый) эпителий железы участвует в секреции бикарбонатов, воды, муцинов, а также в модификации ионного состава первичного панкреатического

секрета ацинусов, который представлен преимущественно пищеварительными ферментами [11, 12]. Бикарбонаты необходимы для нейтрализации кислого содержимого, поступающего в кишечник из желудка. Мукоидный секрет придает панкреатическому соку вязкость и выполняет защитную функцию [13]. Сбалансированное содержание воды, бикарбонатов, белков, муцинов обеспечивает дальнейший транспорт секрета в кишечник.

**Изменение дуктальной секреции бикарбонатов и воды при хроническом панкреатите.**

Для лучшего понимания механизмов дуктальной секреции важное значение имело усовершенствование физиологических, клеточных и молекулярных технологий, которые позволили улучшить молекулярную идентификацию, уточнить локализацию и функции ионных транспортеров протоковых клеток [14, 15]. Установлено, что решающее значение в механизме переноса анионов  $\text{HCO}_3^-$ , замещающих в просвете внутридольковых протоков поджелудочной железы анионы  $\text{Cl}^-$ , имеет координированная функция транспортных белков: регулятора анионных каналов CFTR (Cystis Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator) и переносчика SLC26 (Solute Carrier Family26) [16,17]. При физиологической стимуляции белковая киназа (PKA) увеличивает уровень цАМФ, который активирует CFTR-хлорный канал и транспорт  $\text{Cl}^-$  в просвет панкреатических протоков. Так как между бикарбонатами и хлоридами существуют реципрокные отношения, что обуславливает постоянство суммы обоих анионов в процессе секреции, которая приблизительно равна сумме ионов  $\text{H}^+$  и  $\text{Na}^+$ , стимулируется  $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$  обмен [17, 18]. Анионы  $\text{HCO}_3^-$  переносятся протоковыми клетками в обмен на анионы  $\text{Cl}^-$  с помощью SLC26 транспортных белков [18]. Когда концентрация ионов  $\text{Cl}^-$  в секрете падает ниже физиологического уровня, транспорт анионов избирательно изменяется, в результате чего происходит увеличение секреции  $\text{HCO}_3^-$  через CFTR хлорный канал [19, 20]. Вода транспортируется от базальной к люминальной поверхности протоковых клеток преимущественно парацеллюлярным путем под воздействием осмотического градиента, создаваемого движением  $\text{Na}^+$  и  $\text{HCO}_3^-$ , поэтому ее секреция во многом определяется секрецией бикарбонатов.

Анализ панкреатического сока, полученного в экспериментах *in vivo* и *in vitro* и в клинических исследованиях, показал, что при хроническом алкогольном панкреатите секреция воды и  $\text{HCO}_3^-$  уменьшается [21, 22]. Предполагается, что это связано прежде всего с нарушением функции CFTR каналов. Установлено уменьшение экспрессии CFTR и мРНК в апикальной мембране панкреатических протоковых клеток экспериментальных животных, что подтверждается клиническими данными, полученными при исследовании панкреатической ткани пациентов с алкогольным, обструктивным и идеопатическим хроническим панкреатитом [23].

**Изменение белков и муцинов панкреатического секрета в протоках поджелудочной железы при хроническом панкреатите.** Угнетение секреции жидкости и  $\text{HCO}_3^-$  увеличивает концентрацию белка и слизи в поджелудочном соке. Этому способствует также гиперсекреция указанных компонентов, отмечаемая на начальных стадиях развития хронического панкреатита. Так, у пациентов с хроническим панкреатитом и при моделировании заболевания у животных в составе поджелудочного сока обнаруживается избыточное количество таких белков, как трипсин, лактоферрин, GP2 (гликопротеин второго типа), литостатин, секретируемых ацинарными клетками [24–26]. Увеличение секреции трипсина с одной стороны и снижение активности ингибитора трипсина – с другой предрасполагает к преждевременной активации фермента [27]. Ацидификация интраминального pH, которая развивается в результате недостаточной секреции бикарбонатов протоковыми клетками, вызванной, скорее всего, повреждением CFTR при токсичном воздействии алкоголя, также может содействовать этому процессу [22]. При этом благодаря способности лактоферрина (железосвязывающего гликопротеина) потенцировать агрегацию ацидофильных белков, в частности альбуминов, может запускаться процесс формирования белковых сгустков [6]. Замечено, что при снижении значения pH в протоках поджелудочной железы ниже 7,0 увеличивается вероятность агрегирования еще одного гликопротеина – GP2 (обнаружен в составе эндоскопически полученного материала пробок у пациентов) [28]. Исследования панкреатических камней с помощью методов сканирующей электронной микроскопии и иммуногистохимического окрашивания выявили большую вариабельность количества белка у пациентов с хроническим панкреатитом [24, 25]. В 100 % случаев в камнях преобладала иммуно-

реактивность фосфогликопротеина – литостатина, в 85 % – трипсина, в 23 % – лактоферрина. Несмотря на то что в образовании камней поджелудочной железы участие литостатина является бесспорным, механизмы его действия еще до конца не выявлены. Установлена способность изоформ литостатина S2-5 стабилизировать кальций в водорастворимом состоянии, предотвращая тем самым в физиологических условиях рост кристаллов кальция и образование камней [29, 30]. При хроническом алкогольном панкреатите отмечается заметное снижение концентрации литостатина в панкреатическом соке [31]. Эти наблюдения легли в основу литостатиновой теории патогенеза хронического панкреатита [30]. Однако дальнейшие исследования выявили некоторые противоречивые факты, касающиеся гипотетической роли литостатина в образовании камней и развитии хронического панкреатита [7, 32, 33]. Установлено, что панкреатический литостатин может обладать разнонаправленным действием в отношении кристаллизации солей кальция, за что он получил название «двуликий Янус» [9]. При добавлении трипсина к секрету поджелудочной железы литостатин из растворимых форм S2–S5 превращается в нерастворимую фибриллярную форму S1. Допускается, что при хроническом панкреатите внутрипротоковая активация трипсиногена может способствовать трансформации растворимых изоформ S2–S5 литостатина в нерастворимую форму S1 с последующим ее осаждением в конкременте [8, 29].

Дегидратация и повышение кислотности панкреатического секрета в протоках поджелудочной железы оказывают влияние и на слизистый компонент, в синтезе которого протоковые клетки принимают непосредственное участие. В физиологических условиях дуктулоциты экспрессируют мембраносвязанные, а также секреторные гликопротеины, которые образуют защитный слой слизи на поверхности эпителиальных клеток. Подчеркивается, что слизистый слой, который обычно служит защитным физическим, химическим и биологическим барьером, в поджелудочной железе способен также осуществлять защиту от действия ферментов или желчных кислот при рефлюксе желчи. Муцины, сиаловые кислоты, секретируемые в панкреатический сок, придают ему вязкость [11]. Установлено, что увеличение доли слизи в секрете может препятствовать его транспорту по протоковой системе вплоть до обтурации протоков слизисто-белковыми преципитатами, способствуя прогрессированию хронического панкреатита. В фундаментальной работе А. Balázs с соавт. [13] приведены данные об изменении качественного и количественного состава слизи в протоках поджелудочной железы у пациентов с хроническим панкреатитом, а также у мышей с церулеин-моделированным хроническим панкреатитом по сравнению с ее составом в здоровой поджелудочной железе. Гистохимический метод комбинированного окрашивания срезов с помощью альцианового синего и ШИК-реакции позволил установить наличие тонкого слоя слизи, содержащей гликопротеины, в составе которых на поверхности эпителиоцитов междольковых протоков как в контроле, так и в случае хронического панкреатита преобладали кислые мукополисахариды. В контрольной группе в просвете внутридольковых протоков гликопротеины не обнаруживались или их было мало, в то время как в случае хронического панкреатита эти просветы почти полностью были заполнены слизью [34]. Морфометрический анализ объемной плотности эпителиальной слизи при хроническом панкреатите показал значительное увеличение содержания слизи в небольших протоках ( $d < 100$  мкм). В более крупных протоках ( $d > 100$  мкм) объемная плотность слизи была почти вдвое выше, чем в мелких, однако ее значения существенно не отличались от контрольных. У мышей с церулеин-индуцированным хроническим панкреатитом гистологически и морфометрически выявлялось аналогичное увеличение гликопротеинов и объемной плотности интралюминальной слизи в малых протоках ( $d < 60$  мкм).

Накопление слизи в небольших протоках можно объяснить как ее гиперсекрецией, так и затруднением оттока из протоковой системы. Анализ экспрессии мРНК различных муцинов поджелудочной железы у пациентов с хроническим панкреатитом и у экспериментальных животных показал значительное увеличение экспрессии гликопротеинов МИС5В и МИС6, что подтверждает факт гиперсекреции слизи при хроническом панкреатите [35]. С помощью магниторезонансной холангиопанкреатографии (MRCP) проведено измерение общего объема дуктального секрета *in vivo* и *in vitro* (на культуре из панкреатических протоков), которое показало уменьшение объема как базальной, так и стимулируемой  $\text{HCO}_3^-$ -содержащей секреторной жидкости

при хроническом панкреатите. Причем увеличение продукции слизи (гиперэкспрессия МИС6) на ранней стадии развития заболевания сопровождалось уменьшением секреции жидкости. Учитывая, что слизь аккумулируется в дуктулоцитах небольших протоков, где самая высокая экспрессия и секреция анионов  $\text{HCO}_3^-$ , а также то обстоятельство, что гиперсекреция слизи происходит параллельно с цАМФ-зависимым транспортом электролитов и воды, возможен общий механизм дисрегуляции CFTR и секреции слизи [13]. Угнетение секреции жидкости и  $\text{HCO}_3^-$  снижает внутридуктальный pH и изменяет реологические свойства слизи, увеличивая вязкость секрета. Биофизические свойства слизи напрямую зависят от содержания  $\text{HCO}_3^-$  [36]. Отрицательно заряженные полимеры муцина при низких значениях pH и очень высокой концентрации интрагранулярного кальция, который концентрирует полимеры слизи, упакованы в гранулы. Изучение механизма влияния  $\text{HCO}_3^-$  на формирование слизи показало следующее: под действием бикарбонатов концентрация  $\text{Ca}^{2+}$  уменьшается, что способствует деконденсации гранул слизи, позволяя контролировать их деградацию, набухание и дисперсию. При экзоцитозе объем слизистых полимеров муцина может увеличиваться почти в 1000 раз [37]. Бикарбонаты, улучшая гидратацию и реологические свойства слизи, способствуют ее транспорту и вымыванию из системы протоков. Согласно этим данным, недостаточность CFTR-опосредуемого транспорта ионов бикарбоната при хроническом панкреатите может привести к образованию патологически плотной и вязкой слизи, что затруднит ее транспорт. Дисбаланс между гиперконцентрацией слизи и белков и механизмом дуктального оттока способствует формированию пробок, задерживающих выход панкреатических ферментов.

**Заключение.** Таким образом, анализ научных сведений показал, что на ранних стадиях развития хронического панкреатита под влиянием алкоголя или других панкреатит-провоцирующих факторов нарушается дуктальная секреция поджелудочной железы, обусловленная в основном повреждением CFTR-транспортного механизма. Это приводит к дегидратации и ацидификации панкреатического секрета, сопровождающихся гиперконцентрацией белковых и слизистых компонентов. Преципитация белка и изменение реологических свойств слизи обуславливают формирование слизисто-белковых пробок (камней), препятствующих оттоку поджелудочного сока и способствующих прогрессированию хронического панкреатита.

**Конфликт интересов.** Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

#### Список использованных источников

1. Взаимосвязь фиброза и гипоксии поджелудочной железы в патогенезе хронического панкреатита / А. В. Воробей [и др.] // Укр. журн. хирургии. – 2017. – № 2. – С. 10–20.
2. Литовский, И. А. Панкреатиты (вопросы патогенеза, диагностики, лечения) / И. А. Литовский, А. В. Гордиенко. – СПб. : СпецЛит, 2015. – 231 с.
3. Ревтович, М. Ю. Хронический панкреатит: некоторые аспекты проблемы / М. Ю. Ревтович, С. И. Леонович // Мед. журн. – 2006. – № 4. – С. 14–16.
4. Pallagi, P. The physiology and pathophysiology of pancreatic ductal secretion: the background for clinicians / P. Pallagi, P. Hegyi, Z. Rakonczay // *Pancreas*. – 2015. – Vol. 44, N 8. – P. 1211–1233. <https://doi.org/10.1097/mpa.0000000000000421>
5. Маев, И. В. Теории и гипотезы патогенеза хронического панкреатита / И. В. Маев, Ю. А. Кучерявый // *Клин. перспективы гастроэнтерологии, гепатологии*. – 2005. – № 2. – С. 18–26.
6. Радионов, И. А. Современные представления об этиологии и патогенезе первичного хронического панкреатита / И. А. Радионов // *Медицина в Кузбассе*. – 2005. – Т. 4, № 1. – С. 3–8.
7. Pathophysiology of chronic pancreatitis / C. Brock [et al.] // *World J. Gastroenterol.* – 2013. – Vol. 19, N 42. – P. 7231–7240. <https://doi.org/10.3748/wjg.v19.i42.7231>
8. Маев, И. В. Литостатин: современный взгляд на биологическую роль и патогенез хронического панкреатита / И. В. Маев, Ю. А. Кучерявый // *Рос. журн. гастроэнтерологии, гепатологии и колопроктологии*. – 2006. – Т. 16, № 5. – С. 4–10.
9. Мартусевич, А. К. Панкреатические лектины: «двуликий янус» поджелудочной железы / А. К. Мартусевич, Ж. Г. Симонова, Н. Ф. Камакин // *Вестн. нов. мед. технологий*. – 2011. – Т. 18, № 1. – С. 12–16.
10. Molecular mechanisms of pancreatic stone formation in chronic pancreatitis / S. B. H. Ko [et al.] // *Front. Physiol.* – 2012. – Vol. 3. – Art. 415. <https://doi.org/10.3389/fphys.2012.00415>
11. Коротько, Г. Ф. Секреция поджелудочной железы / Г. Ф. Коротько. – 2-е изд., доп. – Краснодар : Изд-во Кубан. гос. мед. ун-та, 2005. – 312 с.
12. Можейко, Л. А. Гистофизиология дуктальной секреции поджелудочной железы / Л. А. Можейко // *Гепатология и гастроэнтерология*. – 2019. – Т. 3, № 1. – С. 22–27.

13. Ductal mucus obstruction and reduced fluid secretion are early defects in chronic pancreatitis / A. Balázs [et al.] // *Front. Physiol.* – 2018. – Vol. 9. – Art. 632. <https://doi.org/10.3389/fphys.2018.00632>
14. Diverse transport modes by the solute carrier 26 family of anion transporters / E. Ohana [et al.] // *J. Physiol.* – 2009. – Vol. 587, N 10. – P. 2179–2185. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2008.164863>
15. Molecular mechanism of pancreatic and salivary gland fluid and HCO<sub>3</sub> secretion / M. G. Lee [et al.] // *Physiol. Rev.* – 2012. – Vol. 92, N 1. – P. 39–74. <https://doi.org/10.1152/physrev.00011.2011>
16. Kunzelmann, K. CFTR: interacting with everything / K. Kunzelmann // *Physiology.* – 2001. – Vol. 16, N 4. – P. 167–170. <https://doi.org/10.1152/physiologyonline.2001.16.4.167>
17. Dynamic regulation of CFTR bicarbonate permeability by [Cl<sup>-</sup>]<sub>i</sub> and its role in pancreatic bicarbonate secretion / H. W. Park [et al.] // *Gastroenterology.* – 2010. – Vol. 139, N 2. – P. 620–631. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2010.04.004>
18. Coupling modes and stoichiometry of Cl<sup>-</sup>/HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> exchange by slc26a3 and slc26a6 / N. Shcheynikov [et al.] // *J. Gen. Physiol.* – 2006. – Vol. 127, N 5. – P. 511–524. <https://doi.org/10.1085/jgp.200509392>
19. Gating of CFTR by the STAS domain of SLC26 transporters / S. B. H. Ko [et al.] // *Nat. Cell Biol.* – 2004. – Vol. 6, N 4. – P. 343–350. <https://doi.org/10.1038/ncb1115>
20. Madácsy, T. Cystic fibrosis of the pancreas: the role of CFTR channel in the regulation of intracellular Ca<sup>2+</sup> signaling and mitochondrial function in the exocrine pancreas / T. Madácsy, P. Pallagi, J. Maleth // *Front. Physiol.* – 2018. – Vol. 9. – Art. 1585. <https://doi.org/10.3389/fphys.2018.01585>
21. Ethanol and its non-oxidative metabolites profoundly inhibit CFTR function in pancreatic epithelial cells which is prevented by ATP supplementation / L. Judác [et al.] // *Pflügers Archiv.* – 2014. – Vol. 466, N 3. – P. 549–562. <https://doi.org/10.1007/s00424-013-1333-x>
22. Alcohol disrupts levels and function of the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator to promote development of pancreatitis / J. Maléth [et al.] // *Gastroenterology.* – 2015. – Vol. 148, N 2. – P. 427–439.e16. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2014.11.002>
23. Corticosteroids correct aberrant CFTR localization in the duct and regenerate acinar cells in autoimmune pancreatitis / S. B. H. Ko [et al.] // *Gastroenterology.* – 2010. – Vol. 138, N 5. – P. 1988–1996.e3. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2010.01.001>
24. Pancreatic stone protein of pancreatic calculi in chronic calcified pancreatitis in man / C. X. Jin [et al.] // *J. Pancreas.* – 2002. – Vol. 3, N 2. – P. 54–61.
25. Lactoferrin in chronic pancreatic / C. X. Jin [et al.] // *J. Pancreas.* – 2009. – Vol. 10, N 3. – P. 237–241.
26. Chronic pancreatitis: challenges and advances in pathogenesis, genetics, diagnosis, and therapy / H. Witt [et al.] // *Gastroenterology.* – 2007. – Vol. 132, N 4. – P. 1157–1173. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2007.03.001>
27. Role of proteases and antiprotease in the etiology of chronic pancreatitis / S. Kavutharapu [et al.] // *Saudi J. Gastroenterol.* – 2012. – Vol. 18, N 6. – P. 364–368. <https://doi.org/10.4103/1319-3767.103427>
28. Freedman, S. D. New concepts in understanding the pathophysiology of chronic pancreatitis / S. D. Freedman // *Int. J. Pancreatol.* – 1998. – Vol. 24, N 1. – P. 1–8.
29. Characterization of calcium binding properties of lithostathine / B.-I. Lee [et al.] // *J. Biol. Inorg. Chem.* – 2003. – Vol. 8, N 3. – P. 341–347. <https://doi.org/10.1007/s00775-002-0421-8>
30. Sarles, H. Lithostathine and pancreatic lithogenesis / H. Sarles, J. P. Bernard // *Gastroenterol. Int.* – 1991. – Vol. 4. – P. 130–134.
31. Pancreatic stone protein. II. Implications in stone formation during the course of chronic pancreatitis / L. Multigner [et al.] // *Gastroenterology.* – 1985. – Vol. 89, N 2. – P. 387–391. [https://doi.org/10.1016/0016-5085\(85\)90341-5](https://doi.org/10.1016/0016-5085(85)90341-5)
32. De Regi, M. Protein-X, pancreatic stone-, pancreatic thread-, reg-protein, P19, lithostathine, and now what? Characterization structural analysis and putative function(s) of the major non enzymatic protein of pancreatic secretion / M. De Regi, B. Garib // *Curr. Protein Peptide Sci.* – 2001. – Vol. 2, N 1. – P. 19–42. <https://doi.org/10.2174/1389203013381233>
33. Patard, L. An insight into the role of human pancreatic lithostathine / L. Patard, J. Y. Lallemand, V. Stoven // *J. Pancreas.* – 2003. – Vol. 4, N 2. – P. 92–103.
34. Тонкина, О. Н. Роль изменений протокового эпителия в морфогенезе хронического калькулезного панкреатита / О. Н. Тонкина // *Рос. журн. гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии.* – 2003. – № 5. – С. 78–79.
35. The characterization of the first anti-mouse Muc6 antibody shows an increased expression of the mucin in pancreatic tissue of Cfr-knockout mice / V. Gouyer [et al.] // *Histochem. Cell Biol.* – 2010. – Vol. 133, N 5. – P. 517–525. <https://doi.org/10.1007/s00418-010-0688-8>
36. Quinton, P. M. Cystic fibrosis: impaired bicarbonate secretion and mucoviscidosis / P. M. Quinton // *Lancet.* – 2008. – Vol. 372, N 9636. – P. 415–417. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(08\)61162-9](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(08)61162-9)
37. A new role for bicarbonate in mucus formation / E. Y. T. Chen [et al.] // *Am. J. Physiol.* – 2010. – Vol. 299, N 4. – P. L542–L549. <https://doi.org/10.1152/ajplung.00180.2010>

## References

1. Vorobei A. V., Shuleiko A. Ch., Vladimirskaia T. E., Shved I. A., Vizhinis E. I., Orlovskii Yu. N., Makki M. Yu. Interrelation of fibrosis and pancreatic hypoxia in pathogenesis of chronic pancreatitis. *Ukrains'kii zhurnal khirurgii = Ukrainian journal of surgery*, 2017, vol. 33, no. 2, pp. 10–20 (in Russian).
2. Litovskii I. A., Gordienko A. V. *Pancreatitis (questions of pathogenesis, diagnostic, therapy.* Saint-Petersburg, SpetsLit Publ., 2015. 231 p. (in Russian).

3. Revtovich M. Yu., Leonovich S. I. Chronic pancreatitis: some aspects of the problem. *Meditsinskii zhurnal* [Medical journal], 2006, no. 4, pp. 14–16 (in Russian).
4. Pallagi P., Hegyi P., Rakonczay Z. The physiology and pathophysiology of pancreatic ductal secretion: the background for clinicians. *Pancreas*, 2015, vol. 4, no. 8, pp. 1211–1233. <https://doi.org/10.1097/mpa.0000000000000421>
5. Maev I. V., Kucheryavyi Yu. A. Theories and hypotheses of pathogenesis of chronic pancreatitis. *Klinicheskie perspektivy gastroenterologii, gepatologii* [Clinical perspectives of gastroenterology, hepatology], 2005, no. 2, pp. 18–26 (in Russian).
6. Radionov I. A. Modern ideas about the etiology and pathogenesis of primary chronic pancreatitis. *Meditsina v Kuzbasse* [Medicine in Kuzbass], 2005, vol. 4, no. 1, pp. 3–8 (in Russian).
7. Brock C., Nielsen L. M., Lelic D., Drewes A. M. Pathophysiology of chronic pancreatitis. *World Journal of Gastroenterology*, 2013, vol. 19, no. 42, pp. 7231–7240. <https://doi.org/10.3748/wjg.v19.i42.7231>
8. Maev I. V., Kucheryavyi Yu. A. Litostatin: a modern view on the biological role and pathogenesis of chronic pancreatitis. *Rossiiskii zhurnal gastroenterologii, gepatologii i koloproktologii* [Russian journal of gastroenterology, hepatology and coloproctology], 2006, vol. 16, no. 5, pp. 4–10 (in Russian).
9. Martusevich A. K., Simonova Zh. G., Kamakin N. F. Pancreatic lectins: “two-faced Janus” of the pancreas. *Vestnik novykh meditsinskikh tekhnologii* [Bulletin of new medical technologies], 2011, vol. 18, no. 1, pp. 12–16 (in Russian).
10. Ko S. B. H., Azuma S., Yoshikawa T., Yamamoto A., Kyokane K., Ko M. S. H., Ishiguro H. Molecular mechanisms of pancreatic stone formation in chronic pancreatitis. *Frontiers in Physiology*, 2012, vol. 3, art. 415. <https://doi.org/10.3389/fphys.2012.00415>
11. Korot'ko G. F. *Secretion of the pancreas. 2nd ed.* Krasnodar, Publishing House of the Kuban State Medical University, 2005. 312 p. (in Russian).
12. Mozheiko L. A. Histophysiology of pancreatic ductal secretion. *Gepatologiya i gastroenterologiya* [Hepatology and gastroenterology], 2019, vol. 3, no. 1, pp. 22–27 (in Russian).
13. Balázs A., Balla Z., Kui B., Maléth J., Rakonczay Z., Jr, Duerr J. [et al.]. Ductal mucus obstruction and reduced fluid secretion are early defects in chronic pancreatitis. *Frontiers in Physiology*, 2018, no. 9, art. 632. <https://doi.org/10.3389/fphys.2018.00632>
14. Ohana E., Yang D., Shcheynikov N., Muallem S. Diverse transport modes by the solute carrier 26 family of anion transporters. *The Journal of Physiology*, 2009, vol. 587, no. 10, pp. 2179–2185. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2008.164863>
15. Lee M. G., Ohana E., Park H. W., Yang D., Muallem S. Molecular mechanism of pancreatic and salivary gland fluid and HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> secretion. *Physiological Reviews*, 2012, vol. 92, no. 1, pp. 39–74. <https://doi.org/10.1152/physrev.00011.2011>
16. Kunzelmann K. CFTR: interacting with everything. *Physiology*, 2001, vol. 16, no. 4, pp. 167–170. <https://doi.org/10.1152/physiologyonline.2001.16.4.167>
17. Park H. W., Nam J. H., Kim J. Y., Namkung W., Yoon J. S., Lee J. S. [et al.]. Dynamic regulation of CFTR bicarbonate permeability by [Cl<sup>-</sup>]<sub>i</sub> and its role in pancreatic bicarbonate secretion. *Gastroenterology*, 2010, vol. 139, no. 2, pp. 620–631. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2010.04.004>
18. Shcheynikov N., Wang Y., Park M., Ko S. B. H., Dorwart M., Naruse S., Thomas P. J., Muallem S. Coupling modes and stoichiometry of Cl<sup>-</sup>/HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> exchange by slc26a3 and slc26a6. *Journal of General Physiology*, 2006, vol. 127, no. 5, pp. 511–524. <https://doi.org/10.1085/jgp.200509392>
19. Ko S. B. H., Zeng W., Dorwart M. R., Luo X., Kim K. H., Millen L. [et al.]. Gating of CFTR by the STAS domain of SLC<sub>26</sub> transporters. *Nature Cell Biology*, 2004, vol. 6, no. 4, pp. 343–350. <https://doi.org/10.1038/ncb1115>
20. Madácsy T., Pallagi P., Maléth J. Cystic fibrosis of the pancreas: the role of cftr channel in the regulation of intracellular Ca<sup>2+</sup> signaling and mitochondrial function in the exocrine pancreas. *Frontiers in Physiology*, 2018, vol. 9, art. 1585. <https://doi.org/10.3389/fphys.2018.01585>
21. Judák L., Hegyi P., Rakonczay Z. Jr., Maléth J., Gray M. A., Venglovecz V. Ethanol and its non-oxidative metabolites profoundly inhibit CFTR function in pancreatic epithelial cells which is prevented by ATP supplementation. *Pflügers Archiv – European Journal of Physiology*, 2014, vol. 466, no. 3, pp. 549–562. <https://doi.org/10.1007/s00424-013-1333-x>
22. Maléth J., Balázs A., Pallagi P., Balla Z., Kui B., Katona M. [et al.]. Alcohol disrupts levels and function of the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator to promote development of pancreatitis. *Gastroenterology*, 2015, vol. 148, no. 2, pp. 427–439.e16. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2014.11.002>
23. Ko S. B., Mizuno N., Yatabe Y., Yoshikawa T., Ishiguro H., Yamamoto A. [et al.]. Corticosteroids correct aberrant CFTR localization in the duct and regenerate acinar cells in autoimmune pancreatitis. *Gastroenterology*, 2010, vol. 138, no. 5, pp. 1988–1996.e3. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2010.01.001>
24. Jin C. X., Naruse S., Kitagawa M., Ishiguro H., Kondo T., Hayakawa S., Hayakawa T. Pancreatic stone protein of pancreatic calculi in chronic calcified pancreatitis in man. *Journal of the Pancreas*, 2002, vol. 3, no. 2, pp. 54–61.
25. Jin C. X., Hayakawa M., Kitagawa H., Ishiguro H. Lactoferrin in chronic pancreatic. *Journal of the Pancreas*, 2009, vol. 10, no. 3, pp. 237–241.
26. Witt H., Apte M. V., Keim V., Wilson J. S. Chronic pancreatitis: challenges and advances in pathogenesis, genetics, diagnosis, and therapy. *Gastroenterology*, 2007, vol. 132, no. 4, pp. 1157–1173. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2007.03.001>
27. Kavutharapu S., Nagalla B., Abbagani V., Porika S. K., Akka J., Nallari P., Ananthapur V. Role of proteases and antiprotease in the etiology of chronic pancreatitis. *Saudi Journal of Gastroenterology*, 2012, vol. 18, no. 6, pp. 364–368. <https://doi.org/10.4103/1319-3767.103427>
28. Freedman S. D. New concepts in understanding the pathophysiology of chronic pancreatitis. *International Journal of Pancreatology*, 1998, vol. 24, no. 1, pp. 1–8.

29. Lee B.-I., Mustafi D., Cho W., Nakagawa Y. Characterization of calcium binding properties of lithostathine. *Journal of Biological Inorganic Chemistry*, 2003, vol. 8, no. 3, pp. 341–347. <https://doi.org/10.1007/s00775-002-0421-8>
30. Sarles H., Bernard J. P. Lithostathine and pancreatic lithogenesis. *Gastroenterology International*, 1991, vol. 4, pp. 130–134.
31. Multigner L., Sarles H., Lombardo D., De Caro A. Pancreatic stone protein. II. Implications in stone formation during the course of chronic pancreatitis. *Gastroenterology*, 1985, vol. 89, pp. 387–391. [https://doi.org/10.1016/0016-5085\(85\)90341-5](https://doi.org/10.1016/0016-5085(85)90341-5)
32. De Reggi M., Gharib B. Protein-X, pancreatic stone-, pancreatic thread-, reg-protein, P19, lithostathine, and now what? Characterization, structural analysis and putative function(s) of the major non-enzymatic protein of pancreatic secretions. *Current Protein and Peptide Science*, 2001, vol. 2, no. 1, pp. 19–42. <https://doi.org/10.2174/1389203013381233>
33. Patard L., Lallemand J. Y., Stoven V. An insight into the role of human pancreatic lithostathine. *Journal of the Pancreas*, 2003, vol. 4, no. 2, pp. 92–103.
34. Tonkina O. N. The role of changes in ductal epithelium in the morphogenesis of chronic calculous pancreatitis. *Rossiiskii zhurnal gastroenterologii, gepatologii, koloproktologii* [Russian journal of gastroenterology, hepatology, coloproctology], 2003, no. 5, pp. 78–79 (in Russian).
35. Gouyer V., Leir S.-H., Tetaert D., Liu, Y., Gottrand F., Harris A., Desseyn J.-L. The characterization of the first anti-mouse Muc6 antibody shows an increased expression of the mucin in pancreatic tissue of Cftr-knockout mice. *Histochemistry and Cell Biology*, 2010, vol. 133, no. 5, pp. 517–525. <https://doi.org/10.1007/s00418-010-0688-8>
36. Quinton P. M. Cystic fibrosis: impaired bicarbonate secretion and mucoviscidosis. *Lancet*, 2008, vol. 372, no. 9636, pp. 415–417. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(08\)61162-9](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(08)61162-9)
37. Chen E. Y. T., Yang N., Quinton P. M., Chin W.-Ch. A new role for bicarbonate in mucus formation. *American Journal of Physiology*, 2010, vol. 299, no. 4, pp. L542–L549. <https://doi.org/10.1152/ajplung.00180.2010>

### Информация об авторе

Можейко Лариса Андреевна – канд. мед. наук, доцент. Гродненский государственный медицинский университет (ул. Горького, 80, 230015, г. Гродно, Республика Беларусь). E-mail: mozhhejko-hist@yandex.ru

### Information about the author

Larisa A. Mozheiko – Ph. D. (Med.), Assistant professor. Grodno State Medical University (80, Gorky Str., 230015, Grodno, Republic of Belarus). E-mail: mozhhejko-hist@yandex.ru