

ВЕСЦІ

НАЦЫЯНАЛЬнай АКАДЭМІІ НАВУК БЕЛАРУСІ

СЕРЫЯ МЕДЫЦЫНСКІХ НАВУК. 2020. Том 17, № 3

ИЗВЕСТИЯ

НАЦИОНАЛЬНОЙ АКАДЕМИИ НАУК БЕЛАРУСИ

СЕРИЯ МЕДИЦИНСКИХ НАУК. 2020. Том 17, № 3

Журнал основан в 2004 г.
Выходит четыре раза в год

Учредитель – Национальная академия наук Беларуси

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

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. Митковская** – 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. Смянович** – 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, № 3
Выходит на русском, белорусском и английском языках

Редактор *В. Г. Колосовская*
Компьютерная верстка *Л. И. Кудерко*

Подписано в печать 14.08.2020. Выход в свет 27.08.2020. Формат 60×84 1/8. Бумага офсетная.
Печать цифровая. Усл. печ. л. 14,88. Уч.-изд. л. 16,4. Тираж 44 экз. Заказ 138.
Цена номера: индивидуальная подписка – 12,32 руб., ведомственная подписка – 29,31 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. 3

The Journal was founded in 2004

Issued four times a year

Founder is the National Academy of Sciences of Belarus

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

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

Sergey A. Krasny – N. N. Alexandrov National Cancer Centre, Minsk, Republic of Belarus

Natalya P. Mitkovskaya – Belarusian State Medical University, Minsk, Republic of Belarus

Sergey P. Rubnikovich – Belarusian Medical Academy of Postgraduate Education, Minsk, Republic of Belarus

Igor N. Semenenya – Institute of Biochemistry of Biologically Active Substances of the National Academy
of Sciences of Belarus, Grodno, Republic of Belarus

Ryszard R. Sidorovich – Republican Research and Practical Center of Neurology and Neurosurgery, Minsk,
Republic of Belarus

Aleksandr V. Strockij – Belarusian State Medical University, Minsk, Republic of Belarus

Aleksandr V. Sukalo – Belarusian State Medical University, Minsk, Republic of Belarus

Leonid P. Titov – Republican Scientific and Practical Center for Epidemiology and Microbiology, Minsk, Republic of Belarus

Stanislaw I. Tretyak – Belarusian State Medical University, Minsk, Republic of Belarus

Frantishek 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. 3.

Printed in Russian, Belarusian and English languages

Editor *V. G. Kolosovskaya*

Computer imposition *L. I. Kudzerko*

It is sent of the press 14.08.2020. Appearance 27.08.2020. Format 60×84 ¹/₈. Offset paper. The press digital.

Printed pages 14.88. Publisher's signatures 16.4. Circulation 44 copies. Order 138.

Number price: individual subscription – 12.32 byn., departmental subscription – 29.31 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

ЗМЕСТ

КЛІНІЧНАЯ І ЭКСПЕРЫМЕНТАЛЬНАЯ МЕДЫЦЫНА

Машкова М. А., Мохорт Т. В., Горанов В. А. Влияние иммунных факторов пациентов с сахарным диабетом на жизнеспособность клеток кожи <i>in vitro</i>	263
Голдыцкий С. О., Демешко П. Д., Красный С. А. Оценка качества жизни пациентов после радикального лечения рака предстательной железы.....	275
Селицкий А. В., Кезля О. П. Алгоритм лечения сложных сегментарных и многооскольчатых диафизарных переломов большеберцовой кости	287
Хархаль А. Н., Титов Л. П., Янович О. О. Молекулярная эволюция фрагментов 7 генов «домашнего хозяйства», используемых в смеше мультилокусного сиквенс-типирования менингококков.....	301
Науменко Л. В., Красный С. А., Жилиева Е. П., Евмененко А. А., Суцены Г. А. Энуклеация или органосохраняющая методика лечения меланомы сосудистой оболочки глаза?	320
Юшкевич Е. К., Митьковская Н. П., Григоренко Е. А. Синдром обструктивного апноэ во сне: функциональное состояние эндотелия сосудов и особенности мозговой гемодинамики	329
Разводовский Ю. Е., Смирнов В. Ю., Семененя И. Н. Влияние аминокислотных препаратов на аминокислотный состав печени крыс при субхронической алкогольной интоксикации	337
Рубникович С. П., Абельская И. С., Денисова Ю. Л., Сирак С. В., Шишов В. Г. Перспективы применения конусно-лучевой компьютерной томографии для оценки патологии верхних дыхательных путей у пациентов с заболеваниями зубочелюстной системы (<i>на англ.</i>)	346
Чепелев С. Н., Висмонт Ф. И. О значимости монооксида азота в реализации инфаркт-лимитирующего эффекта дистантного ишемического посткондиционирования при ишемии-реперфузии миокарда у молодых и старых крыс.....	353
Карпович О. А., Шишко В. И. Экспрессия рецепторов мелатонина при гастроэзофагеальной рефлюксной болезни, ассоциированной с синдромом обструктивного апноэ/гипопноэ во сне	364

АГЛЯДЫ

Коструб А. А., Поляченко Ю. В., Котюк В. В., Герасименко М. А., Мазевич В. Б., Никифорова И. Н., Блонский Р. И., Смирнов Д. А. Вклад повреждений антеролатеральной связки в нестабильность коленного сустава и современные методы их диагностики.....	372
--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	-----

ВУЧОНЫЯ БЕЛАРУСІ

Франтишек Иванович Висмонт (К 70-летию со дня рождения).....	381
---------------------------------------------------------------------	-----

CONTENTS**CLINICAL AND EXPERIMENTAL MEDICINE**

Mashkova M. A., Mokhort T. V., Goranov V. A. Impact of diabetic (diabetes mellitus) patients immune factors on the skin cell viability <i>in vitro</i>	263
Goldytski S. O., Demeshko P. D., Krasny S. A. Quality of life evaluation of patients after radical treatment of prostate cancer.....	275
Sialitski A. V., Kezlya O. P. Algorithm for treatment of complex segmental and complex irregular diaphysial fractures of tibia	287
Kharkhal H. N., Titov L. P., Yanovich O. O. Molecular evolution of the meningococcal fragments of 7 house-keeping genes	301
Naumenko L. V., Krasny S. A., Zhyliaeva K. P., Evmenenko A. A., Suschenya G. A. Is it enucleation or organ-sparing techniques for choroid melanoma treatment?.....	320
Yushkevich E. K., Mitkovskaya N. P., Grigorenko E. A. Obstructive sleep apnea syndrome: functional state of vascular endothelium and features of brain hemodynamics.....	329
Razvodovsky Yu. E., Smirnov V. Yu., Semenya I. N. Effects of amino acid preparations on the amino acid composition of the liver of rats under subchronic alcohol intoxication	337
Rubnikov S. P., Abelskaya I. S., Denisova Yu. L., Sirak S. V., Shishov V. G. Prospects of application of cone beam computed tomography for analyzing upper respiratory tract pathologies in patients with dentition system diseases	346
Chepelev S. N., Vismont F. I. Significance of nitrogen monoxide in the implementation of the infarct-limiting effect of remote ischemic postconditioning in myocardial ischemia-reperfusion in young and old rats	353
Karpovich A. A., Shyshko V. I. Expression of melatonin receptors in the gastroesophageal reflux disease associated with obstructive sleep apnea/hypopnea syndrome.....	364

REVIEWS

Kostrub O. O., Poliachenko Iu. V., Kotiuk V. V., Gerasimenko M. A., Mazevych V. B., Nikiforova I. M., Blonskyi R. I., Smirnov D. A. Contribution of anterolateral ligament injuries to the knee joint instability and modern methods of their diagnostics	372
------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	-----

SCIENTISTS OF BELARUS

Frantishek Ivanovich Vismont (To the 70th Anniversary).....	381
--------------------------------------------------------------------	-----

КЛІНІЧНАЯ І ЭКСПЕРЫМЕНТАЛЬНАЯ МЕДЫЦЫНА
CLINICAL AND EXPERIMENTAL MEDICINE

УДК 16.379-008.64
<https://doi.org/10.29235/1814-6023-2020-17-3-263-274>

Поступила в редакцию 29.04.2020
Received 29.04.2020

М. А. Машкова, Т. В. Мохорт, В. А. Горанов

Белорусский государственный медицинский университет, Минск, Республика Беларусь

**ВЛИЯНИЕ ИММУННЫХ ФАКТОРОВ ПАЦИЕНТОВ
С САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ НА ЖИЗНЕСПОСОБНОСТЬ
КЛЕТОК КОЖИ *IN VITRO***

Аннотация. На сегодняшний день большой научный интерес представляет изучение роли иммунных факторов в патогенезе язвы стопы при сахарном диабете (СД).

Цель исследования – изучить с помощью 3D-клеточной модели *in vitro* характер взаимодействия между клетками кожи (кератиноциты и фибробласты) и факторами иммунной системы, выделенными из периферической крови пациентов с СД второго типа (СД2) и лиц с СД2 с хронической язвой стопы.

Для создания 3D-клеточной модели кожи использовали первичную культуру фибробластов, кератиноциты линии HaCaT (иммортализованные кератиноциты), сыворотку крови и мононуклеары периферической крови пациентов – 9 здоровых доноров без СД, 9 пациентов с СД2 и 9 пациентов с СД2 с синдромом диабетической стопы (СДС) с хронической язвой.

При сокультивировании клеток кожи с мононуклеарной суспензией здоровых доноров, пациентов с СД2 и лиц с СДС доля жизнеспособных фибробластов составила 95,40 [91,75; 99,05] % vs 83,78 [79,03; 89,53] % vs 70,18 [66,38; 72,10] % ($H = 21,259, p < 0,001$), кератиноцитов – 96,40 [92,82; 100,50] % vs 93,61 [86,80; 97,10] % vs 92,87 [85,15; 95,25] % ($H = 4,459, p = 0,108$) соответственно. При отдельном использовании 20 %-ной сыворотки крови доля жизнеспособных фибробластов в этих группах составила 95,61 [92,39; 100,19] % vs 95,80 [88,99; 102,15] % vs 96,20 [99,69; 88,70] % ($H = 0,353, p = 0,838$), кератиноцитов – 99,40 [95,35; 102,05] % vs 98,60 [90,55; 100,40] % vs 94,79 [91,65; 98,16] % ($H = 3,030, p = 0,220$) соответственно.

Установлено, что мононуклеары, выделенные из периферической крови пациентов с СД2 и СД2 с СДС, значительно снижают выживаемость фибробластов при сокультивировании в 3D-модели кожи *in vitro*, не оказывая при этом достоверного влияния на жизнеспособность/выживаемость кератиноцитов. В то же время иммунные факторы, содержащиеся в сыворотке крови пациентов указанных выше групп, не оказывали достоверного эффекта на жизнеспособность клеток кожи в 3D-системе *in vitro*.

Ключевые слова: 3D-клеточная модель кожи, патонез синдрома диабетической стопы, иммунные механизмы, сахарный диабет, мононуклеары

Для цитирования: Машкова, М. А. Влияние иммунных факторов пациентов с сахарным диабетом на жизнеспособность клеток кожи *in vitro* / М. А. Машкова, Т. В. Мохорт, В. А. Горанов // Вест. Нац. акад. наук Беларусі. Сер. мед. навук. – 2020. – Т. 17, № 3. – С. 263–274. <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2020-17-3-263-274>

Maryia A. Mashkova, Tatiana V. Mokhort, Vitaly A. Goranov

Belarusian State Medical University, Minsk, Republic of Belarus

**IMPACT OF DIABETIC (DIABETES MELLITUS) PATIENTS IMMUNE FACTORS
ON THE SKIN CELL VIABILITY *IN VITRO***

Abstract. At the moment, a lot of scientific research focused on the role of immune mechanisms in diabetic foot ulcers development and impaired healing. A 3D skin culture system as a relevant skin model may prove valuable in investigating these mechanisms and may be a useful tool to study interactions between different cell types such as keratinocytes, fibroblasts, and immune cells.

The aim of our research was to study keratinocytes and fibroblasts viability in co-culture with immune factors of patients with diabetes mellitus type 2 (DM2) and patients with diabetes and chronic foot ulcers in a 3D skin culture system.

In this study, the multilayer 3D immunocompetent model of human skin comprising keratinocytes, fibroblasts, and mononuclears in an agarose-fibronectin gel was used. The human immortalized keratinocyte cell line, HaCaT, and primary fibroblast cell culture isolated from skin samples of healthy man in abdominal surgery were used for the 3D system. For the experiment 20 % serum of 9 patients with chronic diabetic foot ulcers (without active inflammation signs), 9 diabetic type 2 patients and 9 healthy people, and mononuclears of the same groups of patients were used. 9 experimental series with 3 repeats were carried out.

Mononuclears of patients with DM2 and DM2 and diabetic foot syndrome (DFS) had a greater inhibitory effect on fibroblasts, significantly inhibiting their proliferation to a level of 83.78 [79.03; 89.53] % vs 70.18 [66.38; 72.10] % vs 95.40 [91.75; 99.05] %, $H = 21.259$, $p < 0.001$ – DM2, DFS, and the control group, respectively. There was no significant difference in the cytotoxic effect of mononuclears on keratinocytes between different groups: 96.40 [92.82; 100.50] % vs 93.61 [86.80; 97.10] % vs 92.87 [85.15; 95.25] %, $H = 4.459$, $p = 0.108$ – control, DM2 and DFS group, respectively. Adding serum to the culture system influenced significantly the viability of neither keratinocytes – 99.40 [95.35; 102.05] % vs 98.60 [90.55; 100.40] % vs 94.79 [91.65; 98.16] %, $H = 3.030$, $p = 0.220$ nor of fibroblasts – 95.61 [92.39; 100.19] % vs 95.80 [88.99; 102.15] % vs 96.20 [99.69; 88.70] %, $H = 0.353$, $p = 0.838$, control, DM2 and DFS group, respectively.

It was determined that the fibroblasts viability significantly decreases after introducing mononuclears of patients with DM and patients with DM and chronic diabetic foot ulcers to the co-culture system. Adding serum of these patient groups to the culture system doesn't influence significantly the viability of skin cells

Keywords: 3D skin culture system, diabetic foot syndrome pathogenesis, immune mechanisms, diabetes mellitus, mononuclears

For citation: Mashkova M. A., Mokhort T. V., Goranov V. A. Impact of diabetic (diabetes mellitus) patients immune factors on the skin cell viability *in vitro*. *Vesti Natsyonal'noi akademii navuk Belarusi. Seriya meditsinskikh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2020, vol. 17, no. 3, pp. 263–274 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2020-17-3-263-274>

Введение. Согласно данным Международной диабетологической федерации, количество пациентов с сахарным диабетом (СД) в возрасте 20–79 лет на 2018 г. составило 463 млн человек [1]. Синдром диабетической стопы (СДС) – одно из наиболее тяжелых поздних осложнений СД. Исследования показывают, что риск формирования язвы стопы у пациентов с СД в течение жизни может достигать 25 % [2], а в развитых странах диабет является самой частой причиной нетравматических ампутаций [3].

Общепринятыми факторами в патогенезе СДС являются диабетическая дистальная полинейропатия с нарушением протективной чувствительности и деформациями стоп, нарушение периферического кровотока в артериях нижних конечностей и инфекция. В соответствии с патогенетическими факторами основополагающими принципами в лечении СДС являются разгрузка стопы, восстановление артериального кровотока, борьба с инфекцией, коррекция гипергликемии и адекватная местная обработка раны [4]. Однако, по данным специализированных центров, даже при соблюдении всех указанных выше условий до 25 % при СД составляют резистентные к стандартному лечению хронические язвы [4]. Поэтому на сегодняшний день большой научный интерес представляет изучение роли дополнительных факторов и механизмов, участвующих в патогенезе и хронической персистенции язв стоп. Изменения в системе иммунитета, которые приводят к нарушению течения репаративных процессов, – один из таких факторов.

Кожа – орган, играющий важную роль физического барьера, а также выполняющий множество других функций. Учитывая сложность анатомии и физиологии кожи человека, трудности изучения ее как органа и процессов, происходящих в ней *in vivo*, уже давно разрабатываются и используются разнообразные клеточные системы для изучения патофизиологии кожи *in vitro*. В идеале такие системы должны быть доступными, информативными, физиологически и клинически значимыми и должны отражать, по крайней мере частично, сложность строения и функционирования человеческого покрова. Многие исследования *in vitro* проводятся в двумерных (2D) однослойных монокультурах, которые не имитируют в достаточной мере сложность строения кожи человека и не являются предикторами реакции тканей на аналогичные раздражители *in vivo*. К объемным трехмерным (3D) моделям относятся искусственные эквиваленты кожи, включающие несколько слоев клеток и формирующие определенную пространственную структуру. Использование трехмерных моделей для исследования поведения клеток в заданных условиях может обеспечить значимые корреляции между реакциями *in vitro* и *in vivo* [5].

Цель данного исследования – изучить с помощью 3D-клеточной модели *in vitro* характер взаимодействия между клетками кожи (кератиноциты и фибробласты) и факторами иммунной

системы, выделенными из периферической крови пациентов с сахарным диабетом второго типа и сахарным диабетом второго типа с хронической язвой стопы.

Материалы и методы исследования. Для создания 3D-клеточной модели кожи использовали фибробласты, выделенные из образцов кожи передней брюшной стенки здоровых доноров при плановых хирургических вмешательствах. После отделения дермы от эпидермиса ее разрезали ножницами на мелкие кусочки и обрабатывали коллагеназой первого типа при 37 °С в течение 1,5 ч. Затем приготовленную суспензию центрифугировали 10 мин при 1200 об/мин, супернатант сливали, а осевшие клетки ресуспендировали в среде для фибробластов (Дульбекко модифицированная среда Игла (DMEM) с добавлением сыворотки эмбрионов коров и антибиотиков). Полученную суспензию вносили в культуральные планшеты и на 1–3 недели помещали в стандартные условия (5 % CO₂, 37 °С) до получения первичной культуры. Каждые 24 ч производили смену питательной среды. По мере роста и достижения субконфлюэнтного слоя клетки снимали с помощью трипсина и этилендиаминтетрауксусной кислоты (ЭДТА) и переносили в новый культуральный флакон с большей площадью поверхности роста клеток (рис. 1).

Для построения 3D-модели использовали кератиноциты линии HaCaT (иммортиализованные кератиноциты), так как выделенные из кожи клетки высокочувствительны к условиям культивирования и количеству проведенных пассажей. В то же время предварительные эксперименты подтвердили схожую реакцию на применяемые цитотоксины/ирританты (описаны ниже) клеток 2–4-го пассажа первичной культуры кератиноцитов и клеток линии HaCaT. Последние обладают высоким пролиферативным потенциалом и не требовательны к условиям культивирования (рис. 2).

При создании 3-мерной модели взаимодействия различных клеточных элементов за основу нами была принята модель, разработанная Y. David с соавт. [6]. В качестве несущей основы использовали планшет со вставками, содержащими пористую полипропиленовую мембрану (поры диаметром 3 мкм). На нижнюю поверхность мембраны были высажены фибробласты в концентрации 1,5·10⁵/мл и культивированы в течение суток при температуре 37 °С и 5 % CO₂. После этого внутрь вставки были высажены кератиноциты в концентрации 5·10⁵/мл (рис. 3), а через 24 ч был введен гидрогель с моноклеарной клеточной фракцией (МФ). Для выделения моноцитов использовали периферическую венозную кровь. Забор материала для анализа производили в вакуумные пробирки с ЭДТА K2. Моноклеары выделяли на градиенте перколлота плотностью 1,131 г/мл. Полученную взвесь моноклеаров дважды отмывали фосфатно-солевым буфером. В камере Горяева подсчитывали количество моноцитов в полученной взвеси и определяли их жизнеспособность с помощью окраски 1 %-ным раствором трипанового синего. Во избежание ошибок при определении количества моноцитов в полученной клеточной взвеси

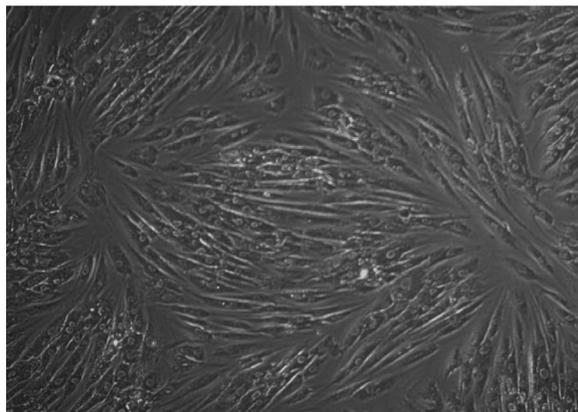


Рис. 1. Первичная культура фибробластов человека, 7-е сутки, 5-й пассаж. ×200

Fig. 1. Primary human fibroblast culture, 7th day, 5th passage. ×200

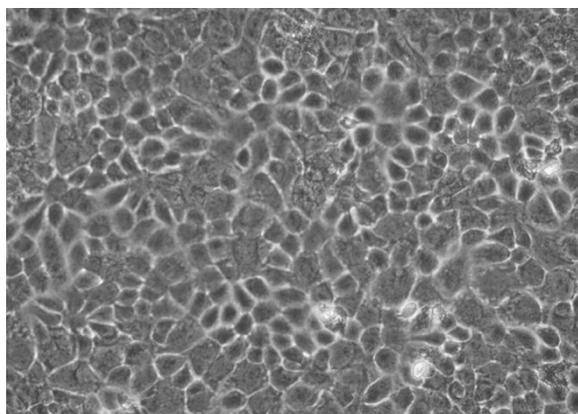


Рис. 2. Культура клеток HaCaT, 5-е сутки, 17-й пассаж. ×200

Fig. 2. HaCaT cell culture, 5th day, 17th passage. ×200

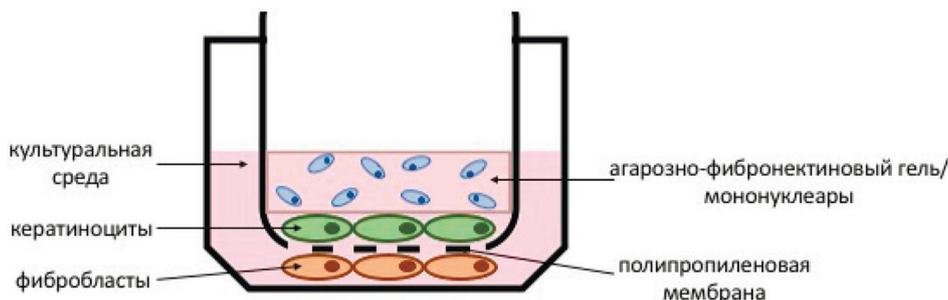


Рис. 3. Экспериментальная 3D-модель межклеточных взаимодействий (по Y. David с соавт. (2013) в нашей модификации)

Fig. 3. Experimental 3D model of intercellular interactions (according to Y. David et al. (2013) in our modification)

на основании только их морфологической структуры использовали моноклональные антитела CD14+ к специфическому моноцитарному рецептору и CD45+ к панлейкоцитарному рецептору. Учет производили с помощью проточного цитофлуориметра. Содержание моноцитов в полученной взвеси составляло не менее 80 %. Клеточные элементы МФ демонстрировали способность к свободной миграции в остальные клеточные слои и сквозь поры поддерживающей мембраны. Однако в количественном отношении примесь этих клеток в популяции кератиноцитов и фибробластов была незначительна (контроль с использованием световой и флуоресцентной микроскопии).

Пример гистологического исследования трехмерной культуры на основе клеток (фибробласты, кератиноциты, мононуклеарная фракция), послойно интегрированных с использованием пористой вставки, представлен на рис. 4.

Полученную 3D-модель совместного культивирования клеток после 4-суточной инкубации применяли для дальнейших экспериментов. В ходе эксперимента использовали 20 %-ную сыворотку и МФ, выделенную из периферической крови 9 пациентов с СДС (с хроническими язвами стоп без признаков активного местного и системного воспаления согласно рекомендациям WGDF/IDSA [4]), 9 пациентов с СД2 без СДС и 9 здоровых доноров без СД. Система была протестирована также со стандартными ирритантами – диметилсульфоксидом (ДМСО), липополисахаридом (ЛПС), додецилсульфатом натрия (НДС). В каждой серии опыты проводили тоекратно.

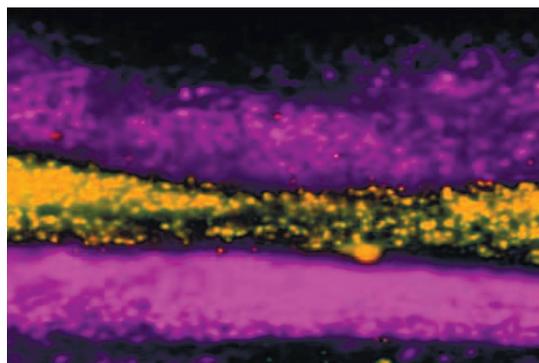


Рис. 4. Поперечный срез трехмерной культуры (3D-культуры), иммобилизованной на пористой полипропиленовой мембране: верхний слой – МФ в составе гидрогеля, средний – кератиноциты, нижний – фибробласты. Конфокальная флуоресцентная микроскопия. $\times 40$

Fig. 4. Porous polypropylene membrane-immobilized 3D cell culture cross-section: top layer – hydrogel-encapsulated mononuclear cell fraction, middle layer – keratinocytes, bottom layer – fibroblasts. Confocal fluorescence microscopy. $\times 40$

Жизнеспособность клеток оценивали согласно протоколу, предложенному для определения метаболической активности клеток, с использованием резазурина [7]. После инкубации с исследуемыми факторами в каждую лунку было добавлено 22 мкл резазурина в конечной концентрации 50 мкМ. Планшеты инкубировали в течение 2 ч. Для построения калибровочной кривой кератиноциты и фибробласты высевали отдельно в планшет в разных концентрациях и инкубировали одновременно с тестируемой культурой. Оптическую плотность образцов определяли с помощью планшетного ридера (TECAN Infinite 200® PRO, Австрия) при длине волны 570 и 600 нм. Калибровочная кривая определяла диапазон, при котором сохранялась линейная зависимость между интенсивностью поглощения и числом клеток в культуре. При помощи калибровочной кривой рассчитывали количество клеток в культуре с исследуемым фактором после инкубации и в контрольной.

Долю жизнеспособных клеток определяли по отношению количества клеток в исследуемом образце к контролю.

Статистическую обработку данных осуществляли с помощью программы SPSS, версия 23.0, с использованием непараметрических методов: для сравнения двух независимых выборок использовали критерий Манна–Уитни, для сравнения трех и более независимых выборок – критерий Краскелла–Уоллиса. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты исследования. Результаты тестирования 3D-клеточной системы с сывороткой и мононуклеарами пациентов представлены на рис. 5–8. Как видно на рис. 5, 6, добавление сыворотки крови как здоровых доноров, так и пациентов с СД2 и СД2 с СДС не оказывало достоверного эффекта на жизнеспособность кератиноцитов и фибробластов в 3D-модели кожи. При сокультивировании клеток кожи с мононуклеарами пациентов доля жизнеспособных фибробластов для группы здоровых доноров, пациентов с СД2 и пациентов с СДС составила 95,40 [91,75; 99,05] % vs 83,78 [79,03; 89,53] % vs 70,18 [66,38; 72,10] % соответственно ($H = 21,259$, $p < 0,001$) (рис. 7). Таким образом, сокультивирование клеток кожи с мононуклеарной суспензией пациентов с СД2 и СД2 с СДС существенно снижало выживаемость фибробластов в 3D-системе. Статистически достоверные различия отмечались также в выраженности (силе) эффекта подавления метаболической активности фибробластов ($Z_{\text{СД2-СДС}} = -3,488$, $p < 0,001$) между мононуклеарами пациентов с СД2 и СД2 с СДС. В то же время не выявлены достоверные различия в действии МФ пациентов разных групп на жизнеспособность кератиноцитов – для группы здоровых доноров, пациентов с СД2 и пациентов с СДС доля жизнеспособных кератиноцитов составила 96,40 [92,82; 100,50] % vs 93,61 [86,80; 97,10] % vs 92,87 [85,15; 95,25] % соответственно ($H = 4,459$, $p = 0,108$) (рис. 8).

Влияние совместного культивирования кератиноцитов и фибробластов с лимфоцитарно-моноцитарной суспензией и сывороткой пациентов с добавлением стандартных ирритантов на жизнеспособность клеток кожи в 3D-системе приведены в таблице.

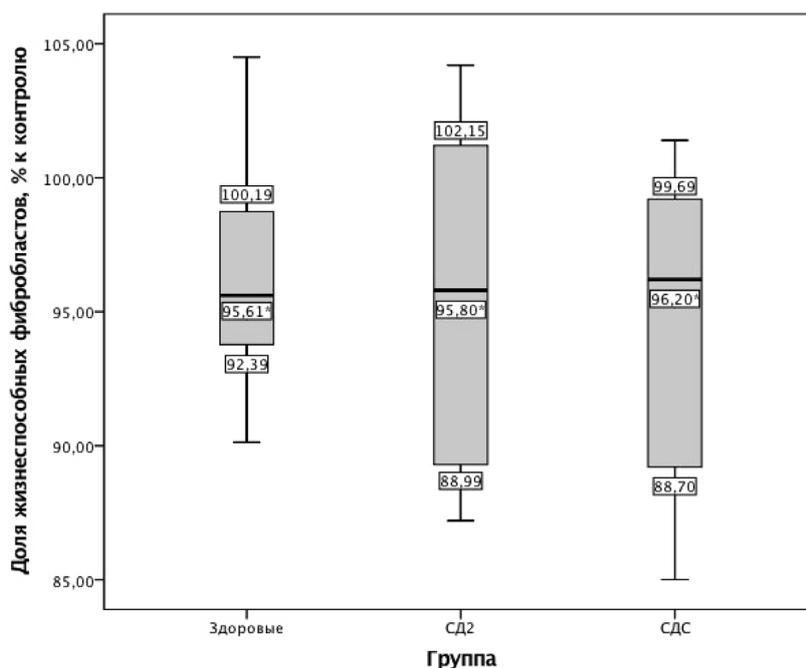


Рис. 5. Выживаемость фибробластов при совместном культивировании клеток кожи с сывороткой крови пациентов разных групп в 3D-модели. * – отсутствие достоверных различий между группами ($H = 0,353$, $p = 0,838$)

Fig. 5. Fibroblasts viability in co-cultivation with keratinocytes and blood serum in the 3D skin model.

* – no significant difference between the groups ($H = 0.353$, $p = 0.838$)

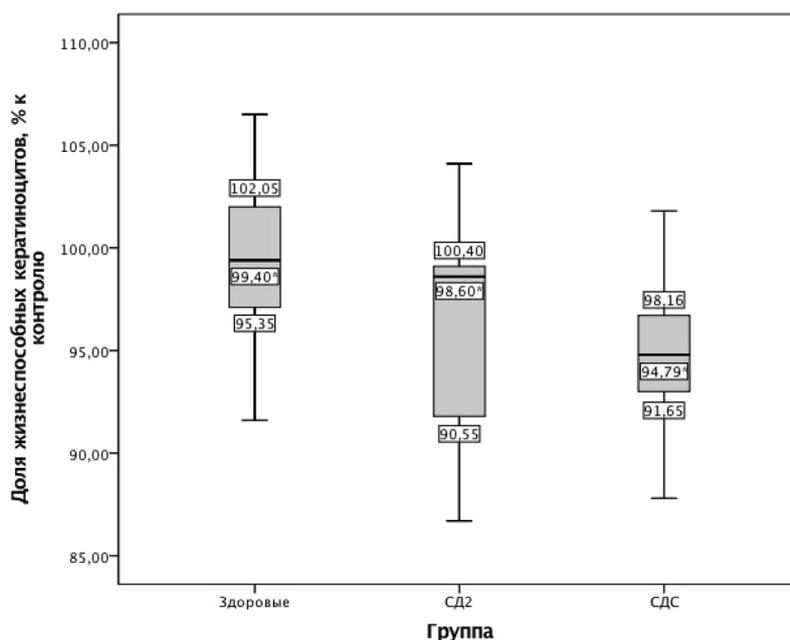


Рис. 6. Выживаемость кератиноцитов при совместном культивировании клеток кожи с сывороткой крови пациентов разных групп в 3D-модели. * – отсутствие достоверных различий между группами ($H = 3,030, p = 0,220$)

Fig. 6. Keratinocytes viability in co-cultivation with fibroblasts and blood serum in the 3D skin model. * – no significant difference between the groups ($H = 3.030, p = 0.220$)

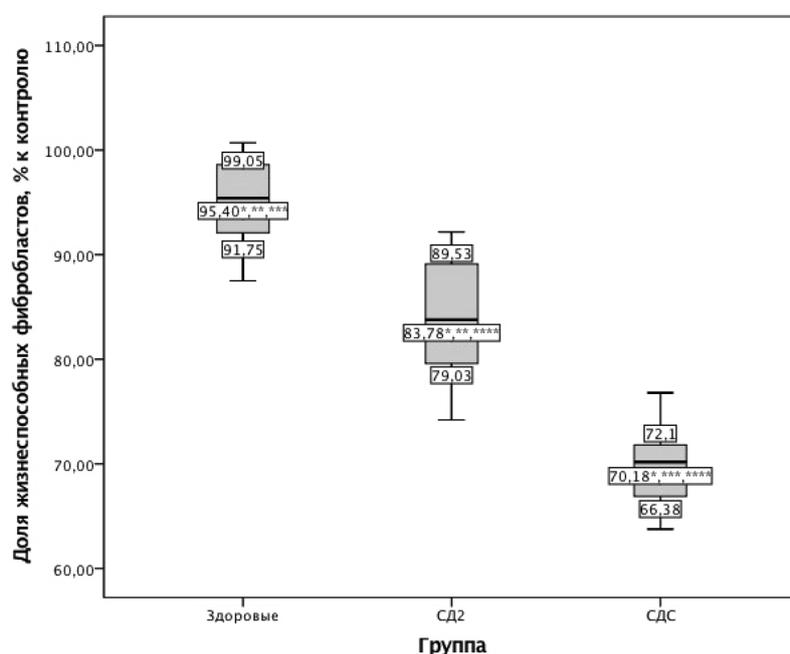


Рис. 7. Выживаемость фибробластов при совместном культивировании клеток кожи с мононуклеарной суспензией пациентов разных групп в 3D-модели. Достоверность различий: * – между всеми группами ($H = 21,259, p < 0,001$); ** – между группой здоровых и группой СД2 ($Z_{зд-сд2} = -3,048, p = 0,001$); *** – между группой здоровых и группой СДС ($Z_{зд-сдс} = -3,578, p < 0,001$); **** – между группами СД2 и СДС ($Z_{сд2-сдс} = -3,488, p < 0,001$)

Fig. 7. Fibroblasts viability in co-cultivation with keratinocytes and mononuclears in the 3D skin model. Significant difference: * – between the groups ($H = 21.259, p < 0.001$); ** – between the healthy group and the DM2 group ($Z_{H-DM2} = -3.048, p = 0.001$); *** – between the healthy group and the DFS group ($Z_{H-DFS} = -3.578, p < 0.001$); **** – between the DM2 and DFS groups ($Z_{DM2-DFS} = -3.488, p < 0.001$)

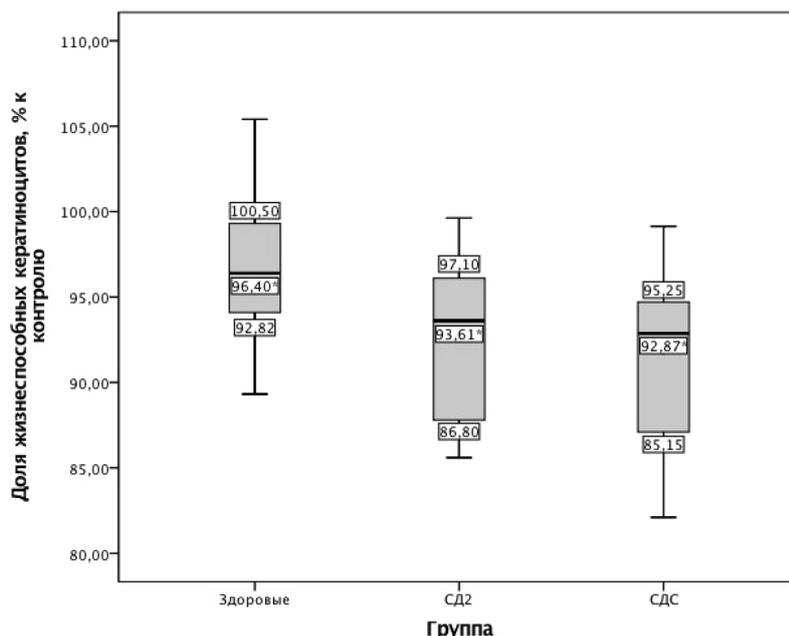


Рис. 8. Выживаемость кератиноцитов при совместном культивировании клеток кожи с мононуклеарной суспензией у пациентов разных групп в 3D-модели. * – отсутствие достоверных различий между группами ($H = 4,459, p = 0,108$)

Fig. 8. Keratinocyte survival in co-cultivation of skin cells with a mononuclear suspension of different patient groups in the 3D cell system. * – no significant difference between the groups ($H = 4.459, p = 0.108$)

Выживаемость кератиноцитов и фибробластов при совместном культивировании с лимфоцитарно-моноцитарной суспензией и сывороткой крови пациентов с добавлением стандартных ирритантов в 3D-клеточной системе, %

Survival of keratinocytes and fibroblasts when co-cultured with lymphocyte-monocytic suspension and patient serum with the addition of standard irritants in the 3D cell system, %

Ирритант	Контроль (только стандартные ирританты)		Лимфоциты/моноциты + сыворотка крови здоровых доноров		Лимфоциты/моноциты + сыворотка крови пациентов с СД 2		Лимфоциты/моноциты + сыворотка крови пациентов с СДС	
	Кератиноциты	Фибробласты	Кератиноциты	Фибробласты	Кератиноциты	Фибробласты	Кератиноциты	Фибробласты
Контроль	100,00	100,00	–	–	–	–	–	–
ДМСО (1000 мкг/мл)	101,10 [96,65; 105,36] ¹	104,80 [98,95; 107,15]	97,56 [94,75; 100,23]	96,28 [91,53; 97,50]	95,41 [91,64; 97,93]	85,67 [81,30; 89,21]	94,17 [91,06; 96,98]	73,69 [71,17; 78,93]
ЛПС (10 мкг/мл)	108,60 [105,43; 11,72]	100,36 [98,70; 103,45]	92,54 [90,92; 96,78]	90,14 [84,32; 90,57] ⁴	90,98 [88,94; 94,29]	76,43 [73,13; 81,12] ⁴	89,76 [87,78; 95,36] ³	66,45 [62,63; 70,17] ²
НДС (5 мкг/мл)	94,50 [91,22; 97,81]	96,15 [91,40; 97,79]	96,18 [93,03; 99,20]	95,21 [91,26; 97,36]	91,23 [89,11; 97,63]	83,89 [79,28; 88,82]	92,13 [88,45; 93,89]	71,43 [69,21; 76,20]
Только лимфоциты/моноциты + сыворотка крови	–	–	95,24 [92,30; 97,61]	94,23 [91,87; 96,55] ⁴	92,98 [90,72; 96,50]	85,13 [80,81; 87,82] ³	91,78 [88,52; 95,11]	70,42 [68,10; 74,79] ²

Примечание. ¹ – данные представлены в виде Ме [25; 75]; достоверные различия между группами: ² – при $U = 16,0, p = 0,031$; ³ – при $U = 10,0, p = 0,006$; ⁴ – при $U = 5,0, p = 0,001$.

Одновременное добавление сыворотки и мононуклеарной суспензии не оказывало дополнительного токсического эффекта по сравнению с одними мононуклеарами: доля жизнеспособных кератиноцитов для здоровых доноров, пациентов с СД2 и лиц с СДС составила 95,24 [92,30; 97,61] % vs 96,40 [92,82; 100,50] % ($U = 35,0, p = 0,666$), 92,98 [90,72; 96,50] % vs 93,61 [86,80;

97,10] % ($U = 37,0$, $p = 0,796$), 91,78 [88,52; 95,11] vs 92,87 [85,15; 95,25] % ($U = 37,0$, $p = 0,796$); фибробластов – 94,23 [91,87; 96,55] % vs 95,40 [91,75; 99,05] % ($U = 36,0$, $p = 0,730$), 85,13 [80,81; 87,82] % vs 83,78 [79,03; 89,53] % ($U = 38,0$, $p = 0,863$), 70,42 [68,10; 74,79] % vs 70,18 [66,38; 72,1] % ($U = 36,5$, $p = 0,730$) соответственно. При этом, как видно из таблицы, дополнительное использование стандартных ирритантов (ДМСО, ЛПС и НДС) в основном не оказывало существенного влияния на жизнеспособность клеток кожи. Добавление ЛПС в культуру к мононуклеарам и сыворотке крови пациентов незначительно потенцировало действие иммунных клеток на выживаемость фибробластов: для пациентов с СДС доля жизнеспособных фибробластов составила 66,45 [62,63; 70,17] % vs 70,42 [68,10; 74,79] % ($U = 16,0$, $p = 0,031$), для пациентов с СД2 – 76,43 [73,13; 81,12] vs 85,13 [80,81; 87,82] % ($U = 10,0$, $p = 0,006$), для здоровых доноров – 90,14 [84,32; 90,57] % vs 94,23 [91,87; 96,55] % ($U = 5,0$, $p = 0,001$), с ЛПС и без ЛПС соответственно.

Обсуждение. Как известно, в норме в процессе заживления раневых дефектов выделяют 4 фазы – гемостаза/коагуляции, воспаления, пролиферации и ремоделирования, которые плавно перетекают одна в другую. У пациентов с СД изменение течения репаративных процессов на всех стадиях заживления проявляется в виде пролонгации воспалительной фазы, нарушения ангиогенеза, формирования внеклеточного матрикса и грануляционной ткани, процессов реэпителизации и ремоделирования [8].

Фибробласты – одни из ключевых клеток в заживлении ран. Они участвуют в процессах продуцирования и ремоделирования внеклеточного матрикса, ангиогенеза и формирования грануляционной ткани, поддерживают реэпителизацию. Со снижением пролиферативной способности фибробластов и уменьшением их количества в области повреждения связывают нарушение течения репаративных процессов при СД [7]. Традиционно участие фибробластов в процессе заживления ран было изучено в 2D-монослойных клеточных культурах [9]. Однако ввиду отсутствия «объемности», межклеточных перекрестных связей и взаимодействия между клетками и внеклеточным матриксом имеет место упрощенный взгляд на процесс заживления, что ограничивает актуальность этих результатов *in vivo*. Морфология, экспрессия генов и передача сигналов у фибробластов, выращенных в 3D-средах, более сходны с их аналогами *in vivo*, чем с выращенными в 2D-монослоях. Кожные эквиваленты имитируют гетеротипические перекрестные связи между фибробластами и кератиноцитами, которые необходимы для стратификации эпидермиса и дифференцировки кератиноцитов [10]. Поэтому выраженность токсического действия различных молекул и клеток на фибробласты, которая наблюдается *in vitro* в 3D-модели, может быть важным показателем отрицательного влияния этих агентов на течение репаративного процесса *in vivo*. В нашем исследовании для создания 3D-модели преднамеренно использованы фибробласты здоровых доноров – чтобы изучить влияние на их жизнеспособность лимфоцитарно-моноцитарной фракции пациентов с СД, исключив при этом влияние измененного фенотипа самих фибробластов при СД.

Роль макрофагов в развитии хронического системного воспаления, связанного с ожирением и СД2, хорошо описана в работе [11]. Макрофаги также являются одними из ключевых клеток в процессе заживления ран [8]. Однако их роль в нарушении течения репаративных процессов и поддержании хронического воспаления в области раневого дефекта изучена недостаточно. Известно, что для хронических язв при СД характерно усиление миграции моноцитов к месту повреждения и их активация, однако этот процесс сочетается с нарушением нормальной фагоцитарной активности макрофагов, их способности к эффероцитозу. Также отмечается длительная персистенция провоспалительного М1 фенотипа макрофагов в месте повреждения и нарушение переключения на противовоспалительный М2 фенотип в позднюю воспалительную фазу [12]. В большинстве исследований изучается влияние различных цитокинов, ростовых факторов, других регуляторных молекул и клеток на процессы поляризации и пластичность макрофагов непосредственно в самом очаге повреждения. Однако в недавнем исследовании К. А. Gallagher с соавт. [13] показана роль метилирования гистонов стволовых/прогениторных клеток костного мозга в «программировании» моноцитов в сторону провоспалительного фенотипа. В исследовании на мышцах с ожирением авторами обнаружено, что в клетках-предшественницах в костном мозге снижена экспрессия репрессивного маркера $H3K27me3$ в промоторе гена *ИЛ12* и эта эпиге-

нетическая модификация сохраняется также в периферических «раневых» макрофагах. Согласно их данным, увеличение количества деметилазы H3K27, Jmjd3, приводит к увеличению экспрессии гена *ИЛ12*, а следовательно, и продукции самого провоспалительного цитокина у мышей с СД. Ингибирование же Jmjd3 приводит к снижению продукции *ИЛ12* макрофагами. Исследователями было даже высказано предположение, что если моноциты, поступающие в системный кровоток из костного мозга, уже «запрограммированы на провоспалительный фенотип», то используемые в клинической практике методы лечения, направленные на изменение раневой среды в очаге, становятся менее эффективными, поскольку они не решают системную проблему на уровне стволовых/прогениторных клеток костного мозга и уже predeterminedной провоспалительной поляризации макрофагов [13]. Так как в нашем исследовании использованы мононуклеары, выделенные из периферической крови пациентов с СД, то с определенными ограничениями можно предположить, что описанная выше «запрограммированность» токсического действия моноцитов еще до миграции их в очаг воспаления и трансформации в макрофаги может быть одним из вариантов объяснения полученного результата. Безусловно, это требует дальнейших исследований с использованием отдельных клеточных фракций.

Данных об участии лимфоцитов в процессах заживлении раневых дефектов в целом и при СД в частности значительно меньше, чем о роли макрофагов. Известно, что при физиологическом течении репаративного процесса В-лимфоциты ассоциированы в основном с поздней пролиферативной фазой и присутствуют в месте повреждения в относительно небольшом количестве (около 100 клеток/мм³) [14]. Однако в ряде исследований показано, что В-клетки могут действовать как мощные модуляторы регенерации тканей. В дополнение к их способности дифференцироваться в продуцирующие антитела плазматические клетки В-клетки также могут эффективно представлять антигены Т-клеткам и модулировать местный иммунный ответ посредством секреции про- и противовоспалительных цитокинов [15]. Интересно, что выделенные из крови очищенные В-лимфоциты, нанесенные на поврежденную область, оказывали выраженное репаративное действие в исследованиях на мышах [14]. В-клетки, выделенные из костного мозга и непосредственно введенные в места ишемического повреждения миокарда крыс, улучшали сердечную функцию и приводили к восстановлению мышечной ткани, демонстрируя лучшие результаты по сравнению с CD117+ гемопоэтическими стволовыми клетками [16]. Исследования, в которых изучалось влияние В-клеток на процессы заживления при травматических повреждениях, также описывают их благоприятное воздействие. У мышей со спленэктомией, у которых было удалено большинство зрелых В-лимфоцитов, наблюдалось замедленное заживление ран после повреждения кожи, тогда как системное повторное введение изолированных В-клеток способствовало ускорению репаративных процессов [17]. Исследование с использованием CD19-дефицитных животных показало, что гиалуроновая кислота в ранах может функционировать как эндогенный лиганд для toll-like рецептора 4 (TLR-4) на поверхности В-лимфоцитов, вызывая усиленную секрецию интерлейкина (ИЛ)-6, ИЛ-10 и трансформирующего фактора роста (ТФР)-β. Эти цитокины, в свою очередь, способствуют процессу репарации [18]. При заживлении переломов бедренной кости у мышей В-клетки в большом количестве проникали в область каллуса и активно стимулировали регенерацию посредством секреции остеопротегерина 12 [19]. В недавнем исследовании R. F. Sirbulescu с соавт. продемонстрировано, что зрелые наивные B220+/CD19+/IgM+/IgD+ В-клетки улучшали заживление ран у мышей с СД после однократного местного применения. Однако этот эффект не наблюдался при использовании разрушенных В-клеток, а также жизнеспособных Т-клеток и гемопоэтических стволовых клеток [17]. Таким образом, согласно большинству имеющихся данных, В-лимфоциты оказывают положительное действие на течение репаративных процессов, в том числе при СД. Согласно данным исследований, проведенным на мышах, CD4+ и CD8+ Т-лимфоциты, несмотря на их присутствие в области повреждения, участие в воспалительном процессе и влияние на секрецию различных цитокинов, не оказывали значимого эффекта на скорость заживления раневого дефекта, образование коллагена, процессы ангиогенеза [20]. Ряд исследователей связывают нарушение заживления язв стоп при СД с изменением соотношения различных субпопуляций Т-лимфоцитов, увеличением содержания и выраженным цитотоксическим действием CD8+ Т-лимфоцитов [21, 22]. На сегодняшний

день хорошо описана также роль различных субпопуляций Т-лимфоцитов в развитии системного хронического неспецифического воспаления при СД2 и ожирении [21].

И хотя использование суспензии мононуклеаров (несмотря на преимущественное содержание моноцитарной фракции) в 3D-культуре все же не позволяет сделать вывод о конкретном типе иммунных клеток и механизме, обуславливающем снижение выживаемости фибробластов, наши данные подтверждают системный характер изменений, происходящих в организме при СД, в том числе и в системе иммунитета.

Заключение. Таким образом, в данном исследовании было выявлено, что мононуклеары, выделенные из периферической крови пациентов с СД2 и СД2 с СДС, значительно снижают долю жизнеспособных фибробластов при совместном культивировании в 3D-модели кожи *in vitro*, не оказывая при этом достоверного влияния на жизнеспособность кератиноцитов. В то же время сывороточные иммунные факторы указанных выше групп пациентов не оказывают достоверного эффекта на жизнеспособность клеток кожи в 3D-системе *in vitro*.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список использованных источников

1. IDF Diabetes Atlas 9th Edition [Electronic resource] // Int. Diabetes Federation. – Mode of access: <https://www.diabetesatlas.org/en/resources/>. – Date of access: 19.04.2020.
2. Geraghty, T. Current health and economic burden of chronic diabetic osteomyelitis / T. Geraghty, G. LaPorta // Expert Rev. Pharmacoecon. Outcomes Res. – 2019. – Vol. 19, N 3. – P. 279–286. <https://doi.org/10.1080/14737167.2019.1567337>
3. IDF Clinical Practice Recommendations on the Diabetic Foot – 2017. A guide for healthcare professionals / A. Ibrahim [et al.]. – Brussels : Int. Diabetes Federation, 2017. – 70 p.
4. The 2019 IWGDF Guidance Documents on prevention and management of foot problems in diabetes [Electronic resource] // International Working Group on the Diabetic Foot. – Mode of access: <https://iwgdfguidelines.org/guidelines/guidelines/>. – Date of access: 19.04.2020.
5. Ud-Din, S. Non-animal models of wound healing in cutaneous repair: *In silico, in vitro, ex vivo, and in vivo* models of wounds and scars in human skin / S. Ud-Din, A. Bayat // Wound Repair Regen. – 2017. – Vol. 25, N 2. – P. 164–176. <https://doi.org/10.1111/wrr.12513>
6. The development of a 3D immunocompetent model of human skin / D. Y. S. Chau [et al.] // Biofabrication. – 2013. – Vol. 5, N 3. – P. 035011. <https://doi.org/10.1088/1758-5082/5/3/035011>
7. Ahmed, S. A. A new rapid and simple non-radioactive assay to monitor and determine the proliferation of lymphocytes: an alternative to [3H]thymidine incorporation assay / S. A. Ahmed, R. M. Gogal, J. E. Walsh // J. Immunol. Meth. – 1994. – Vol. 170, N 2. – P. 211–224. [https://doi.org/10.1016/0022-1759\(94\)90396-4](https://doi.org/10.1016/0022-1759(94)90396-4)
8. Baltzis, D. Pathogenesis and treatment of impaired wound healing in diabetes mellitus: new insights / D. Baltzis, I. Eleftheriadou, A. Veves // Adv. Ther. – 2014. – Vol. 31, N 8. – P. 817–836. <https://doi.org/10.1007/s12325-014-0140-x>
9. Cellular dysfunction in the diabetic fibroblast. impairment in migration, vascular endothelial growth factor production, and response to hypoxia / O. Z. Lerman [et al.] // Am. J. Pathol. – 2003. – Vol. 162, N 1. – P. 303–312. [https://doi.org/10.1016/S0002-9440\(10\)63821-7](https://doi.org/10.1016/S0002-9440(10)63821-7)
10. Three-dimensional human tissue models that incorporate diabetic foot ulcer-derived fibroblasts mimic *in vivo* features of chronic wounds / A. G. Maione [et al.] // Tissue Eng. Part C Meth. – 2015. – Vol. 21, N 5. – P. 499–508. <https://doi.org/10.1089/ten.TEC.2014.0414>
11. Macrophage polarization in obesity and type 2 diabetes: weighing down our understanding of macrophage function? / M. J. Kraakman [et al.] // Front Immunol. – 2014. – Vol. 5. – Art. 470. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2014.00470>
12. Macrophage dysfunction impairs resolution of inflammation in the wounds of diabetic mice / S. Khanna [et al.] // PLoS ONE. – 2010. – Vol. 5, N 3. – P. e9539. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0009539>
13. Epigenetic changes in bone marrow progenitor cells influence the inflammatory phenotype and alter wound healing in type 2 diabetes / K. A. Gallagher [et al.] // Diabetes. – 2015. – Vol. 64, N 4. – P. 1420–1430. <https://doi.org/10.2337/db14-0872>
14. Mature B cells accelerate wound healing after acute and chronic diabetic skin lesions / R. F. Sîrbulescu [et al.] // Wound Repair Regen. – 2017. – Vol. 25, N 5. – P. 774–791. <https://doi.org/10.1111/wrr.12584>
15. Cytokine-defined B cell responses as therapeutic targets in multiple sclerosis / R. Li [et al.] // Front Immunol. – 2016. – Vol. 6. – Art. 626. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2015.00626>
16. Bone marrow-derived B cells preserve ventricular function after acute myocardial infarction / T. T. Goodchild [et al.] // JACC Cardiovasc. Interv. – 2009. – Vol. 2, N 10. – P. 1005–1016. <https://doi.org/10.1016/j.jcin.2009.08.010>
17. Antibodies to wounded tissue enhance cutaneous wound healing / N. Nishio [et al.] // Immunology. – 2009. – Vol. 128, N 3. – P. 369–380. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2567.2009.03119.x>
18. CD19, a response regulator of B lymphocytes, regulates wound healing through hyaluronan-induced TLR4 signaling / Y. Iwata [et al.] // Am. J. Pathol. – 2009. – Vol. 175, N 2. – P. 649–660. <https://doi.org/10.2353/ajpath.2009.080355>
19. T and B cells participate in bone repair by infiltrating the fracture callus in a two-wave fashion / I. Könnicke [et al.] // Bone. – 2014. – Vol. 64. – P. 155–165. <https://doi.org/10.1016/j.bone.2014.03.052>

20. Absence of CD4 or CD8 lymphocytes changes infiltration of inflammatory cells and profiles of cytokine expression in skin wounds, but does not impair healing / L. Chen [et al.] // *Exp. Dermatol.* – 2014. – Vol. 23, N 3. – P. 189–194. <https://doi.org/10.1111/exd.12346>
21. Immune aging in diabetes and its implications in wound healing / J. Moura [et al.] // *Clin. Immunol.* – 2019. – Vol. 200. – P. 43–54. <https://doi.org/10.1016/j.clim.2019.02.002>
22. Impaired T-cell differentiation in diabetic foot ulceration / J. Moura [et al.] // *Cell. Mol. Immunol.* – 2017. – Vol. 14, N 9. – P. 758–769. <https://doi.org/10.1038/cmi.2015.116>

References

1. *IDF Diabetes Atlas 9th Edition*. Available at: <https://www.diabetesatlas.org/en/resources/> (accessed 19.04.2020).
2. Geraghty T., LaPorta G. Current health and economic burden of chronic diabetic osteomyelitis. *Expert Review of Pharmacoeconomics and Outcomes Research*, 2019, vol. 19, no. 3, pp. 279–286. <https://doi.org/10.1080/14737167.2019.1567337>
3. Ibrahim A., Jude E., Langton K., Martinez-De Jesus F. R., Harkless L. B., Gawish H. [et al.]. *IDF Clinical Practice Recommendations on the Diabetic Foot – 2017. A guide for healthcare professionals*. Brussels, International Diabetes Federation, 2017. 70 p.
4. *The 2019 IWGDF Guidance Documents on prevention and management of foot problems in diabetes*. Available at: <https://iwgdfguidelines.org/guidelines/guidelines/> (accessed 19.04.2020).
5. Ud-Din S., Bayat A. Non-animal models of wound healing in cutaneous repair: *In silico, in vitro, ex vivo, and in vivo* models of wounds and scars in human skin. *Wound Repair and Regeneration*, 2017, vol. 25, no. 2, pp. 164–176. <https://doi.org/10.1111/wrr.12513>
6. Chau D. Y. S., Johnson C., MacNeil S., Haycock J. W., Ghaemmaghami A. M. The development of a 3D immunocompetent model of human skin. *Biofabrication*, 2013, vol. 5, no. 3, p. 035011. <https://doi.org/10.1088/1758-5082/5/3/035011>
7. Ahmed S. A., Gogal R. M., Walsh J. E. A new rapid and simple non-radioactive assay to monitor and determine the proliferation of lymphocytes: an alternative to [3H]thymidine incorporation assay. *Journal of Immunological Methods*, 1994, vol. 170, no. 2, pp. 211–224. [https://doi.org/10.1016/0022-1759\(94\)90396-4](https://doi.org/10.1016/0022-1759(94)90396-4)
8. Baltzis D., Eleftheriadou I., Veves A. *Pathogenesis and treatment of impaired wound healing in diabetes mellitus: new insights*. *Advances in Therapy*, 2014, vol. 31, no. 8, pp. 817–836. <https://doi.org/10.1007/s12325-014-0140-x>
9. Lerman O. Z., Galiano R. D., Armour M., Levine J. P., Gurtner G. C. Cellular dysfunction in the diabetic fibroblast. Impairment in migration, vascular endothelial growth factor production, and response to hypoxia. *American Journal of Pathology*, 2003, vol. 162, no. 1, pp. 303–312. [https://doi.org/10.1016/S0002-9440\(10\)63821-7](https://doi.org/10.1016/S0002-9440(10)63821-7)
10. Maione A. G., Brudno Y., Stojadinovic O., Park L. K., Smith A., Tellechea A. [et al.]. Three-dimensional human tissue models that incorporate diabetic foot ulcer-derived fibroblasts mimic *in vivo* features of chronic wounds. *Tissue Engineering Part C: Methods*, 2015, vol. 21, no. 5, pp. 499–508. <https://doi.org/10.1089/ten.TEC.2014.0414>
11. Kraakman M. J., Murphy A. J., Jandeleit-Dahm K., Kammoun H. L. Macrophage polarization in obesity and type 2 diabetes: weighing down our understanding of macrophage function? *Frontiers in Immunology*, 2014, vol. 5, art. 470. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2014.00470>
12. Khanna S., Biswas S., Shang Y., Collard E., Azad A., Kauh C., Bhasker V., Gordillo G. M., Sen C. K., Roy S. Macrophage dysfunction impairs resolution of inflammation in the wounds of diabetic mice. *PLoS ONE*, 2010, vol. 5, no. 3, pp. e9539. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0009539>
13. Gallagher K. A., Joshi A., Carson W. F., Schaller M., Allen R., Mukerjee S. [et al.]. Epigenetic changes in bone marrow progenitor cells influence the inflammatory phenotype and alter wound healing in type 2 diabetes. *Diabetes*, 2015, vol. 64, no. 4, pp. 1420–1430. <https://doi.org/10.2337/db14-0872>
14. Sîrbulescu R. F., Boehm C. K., Soon E., Wilks M. Q., Ilies J., Yuan H. [et al.]. Mature B cells accelerate wound healing after acute and chronic diabetic skin lesions. *Wound Repair and Regeneration*, 2017, vol. 25, no. 5, pp. 774–791. <https://doi.org/10.1111/wrr.12584>
15. Li R., Rezk A., Healy L. M., Muirhead G., Prat A., Gommerman J. L., Bar-Or A. Cytokine-defined B cell responses as therapeutic targets in multiple sclerosis. *Frontiers in Immunology*, 2016, vol. 6, art. 626. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2015.00626>
16. Goodchild T. T., Robinson K. A., Pang W., Tondato F., Cui J., Arrington J. [et al.]. Bone marrow-derived B cells preserve ventricular function after acute myocardial infarction. *JACC: Cardiovasc Interventions*, 2009, vol. 2, no. 10, pp. 1005–1016. <https://doi.org/10.1016/j.jcin.2009.08.010>
17. Nishio N., Ito S., Suzuki H., Isobe K. Antibodies to wounded tissue enhance cutaneous wound healing. *Immunology*, 2009, vol. 128, no. 3, pp. 369–380. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2567.2009.03119.x>
18. Iwata Y., Yoshizaki A., Komura K., Shimizu K., Ogawa F., Hara T. [et al.]. CD19, a response regulator of B lymphocytes, regulates wound healing through hyaluronan-induced TLR4 signaling. *American Journal of Pathology*, 2009, vol. 175, no. 2, pp. 649–660. <https://doi.org/10.2353/ajpath.2009.080355>
19. Könnecke I., Serra A., Khassawna T., Schlundt C., Schell H., Hauser A. [et al.]. T and B cells participate in bone repair by infiltrating the fracture callus in a two-wave fashion. *Bone*, 2014, vol. 64, pp. 155–165. <https://doi.org/10.1016/j.bone.2014.03.052>
20. Chen L., Mehta N. D., Zhao Y., DiPietro L. A. Absence of CD4 or CD8 lymphocytes changes infiltration of inflammatory cells and profiles of cytokine expression in skin wounds, but does not impair healing. *Experimental Dermatology*, 2014, vol. 23, no. 3, pp. 189–194. <https://doi.org/10.1111/exd.12346>

21. Moura J., Madureira P., Leal E. C., Fonseca A. C., Carvalho E. Immune aging in diabetes and its implications in wound healing. *Clinical Immunology*, 2019, vol. 200, pp. 43–54. <https://doi.org/10.1016/j.clim.2019.02.002>

22. Moura J., Rodrigues J., Gonçalves M., Amaral C., Lima M., Carvalho E. Impaired T-cell differentiation in diabetic foot ulceration. *Cellular and Molecular Immunology*, 2017, vol. 14, no. 9, pp. 758–769 <https://doi.org/10.1038/cmi.2015.116>

Информация об авторах

Машкова Мария Александровна – аспирант, ассистент. Белорусский государственный медицинский университет (пр-т Дзержинского, 83, 220116, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: mashkova.maryia@gmail.com

Мохорт Татьяна Вячеславовна – д-р мед. наук, профессор, заведующий кафедрой. Белорусский государственный медицинский университет (пр-т Дзержинского, 83, 220116, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: tatsiana-mokhort@gmail.com

Горанов Виталий Анатольевич – канд. мед. наук, науч. сотрудник. Белорусский государственный медицинский университет (пр-т Дзержинского, 83, 220116, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: vitgoranov@gmail.com

Information about the authors

Maryia A. Mashkova – Postgraduate student, Assistant. Belarusian State Medical University (83, Dzerzhynskii Ave., 220116, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: mashkova.maryia@gmail.com

Tatiana V. Mokhort – D. Sc. (Med.), Professor, Head of the Department. Belarusian State Medical University (83, Dzerzhynskii Ave., 220116, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: tatsianamokhort@gmail.com

Vitaly A. Goranov – Ph. D. (Med.), Researcher. Belarusian State Medical University (83, Dzerzhynskii Ave., 220116, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: vitgoranov@gmail.com

ISSN 1814-6023 (Print)
ISSN 2524-2350 (Online)
УДК 616-006.6
<https://doi.org/10.29235/1814-6023-2020-17-3-275-286>

Поступила в редакцию 25.02.2020
Received 25.02.2020

С. О. Голдыцкий¹, П. Д. Демешко², С. А. Красный²

¹*Витебский государственный медицинский университет, Витебск, Республика Беларусь*

²*Республиканский научно-практический центр онкологии и медицинской радиологии
им. Н. Н. Александрова, аг. Лесной, Республика Беларусь*

ОЦЕНКА КАЧЕСТВА ЖИЗНИ ПАЦИЕНТОВ ПОСЛЕ РАДИКАЛЬНОГО ЛЕЧЕНИЯ РАКА ПРЕДСТАТЕЛЬНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Аннотация. В статье представлен обзор современных данных о качестве жизни онкологических пациентов после проведенного радикального лечения рака предстательной железы, а также о функциональных результатах этого лечения.

Основная цель работы – оценка функциональных результатов у пациентов после радикальной простатэктомии, сочетанной лучевой терапии и брахитерапии высокой мощностью дозы в монорежиме спустя 8–12 мес. после проведенного лечения.

В исследование было включено 148 пациентов, проходивших лечение с 2017 по 2018 г. Функциональные результаты и качество жизни пациентов оценивали посредством специализированного опросника.

Полученные после проведения лучевой терапии результаты свидетельствуют о лучших функциональных результатах и более высоком уровне качества жизни пациентов, чем после выполнения радикальной простатэктомии.

Ключевые слова: рак предстательной железы, радикальная простатэктомия, сочетанная лучевая терапия, брахитерапия, функциональные результаты, качество жизни, опросник

Для цитирования: Голдыцкий, С. О. Оценка качества жизни пациентов после радикального лечения рака предстательной железы / С. О. Голдыцкий, П. Д. Демешко, С. А. Красный // Вест. Нац. акад. наук Беларусі. Сер. мед. навук. – 2020. – Т. 17, № 3. – С. 275–286. <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2020-17-3-275-286>

Sergei O. Goldytski¹, Pavel D. Demeshko², Sergey A. Krasny²

¹*Vitebsk State Medical University, Vitebsk, Republic of Belarus*

²*N. N. Alexandrov National Cancer Centre of Belarus, Lesnoy, Republic of Belarus*

QUALITY OF LIFE EVALUATION OF PATIENTS AFTER RADICAL TREATMENT OF PROSTATE CANCER

Abstract. The article provides an overview of the current data on the quality of life in cancer patients, as well as the functional results of radical treatment of prostate cancer.

The main goal was to evaluate the functional results in patients after radical prostatectomy, combined radiation therapy, and high dose-rate brachytherapy in 8 to 12 months after treatment. The study included 148 patients treated from 2017 to 2018. The life quality was assessed by specialized questionnaire.

The obtained results indicate the better functional results and a higher level of the quality of life of patients after radiation therapy, compared with radical prostatectomy.

Keywords: prostate cancer, radical prostatectomy, combined radiotherapy, brachytherapy, functional results, quality of life, questionnaire

For citation: Goldytski S. O., Demeshko P. D., Krasny S. A. Quality of life evaluation of patients after radical treatment of prostate cancer. *Vesti Natsyonal'noi akademii nauk Belarusi. Seriya meditsinskikh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2020, vol. 17, no. 3, pp. 275–286 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2020-17-3-275-286>

Введение. На сегодняшний день наряду с эффективностью лечения важную роль играет также сохранение высокого уровня качества жизни пациентов после проведенного вмешательства. Впервые появившееся в начале XX в. понятие «качество жизни» использовали как экономический термин, описывающий общее благополучие человека. Позднее, в 1947 г., D. A. Karnovsky, изучая влияние химиотерапии на онкологических пациентов, использовал этот термин и в медицине. Закреплению данного понятия способствовал и введенный ВОЗ в 1948 г. термин «здоровье»,

который означал не только отсутствие болезни, но и состояние полного физического, психического и эмоционального благополучия человека. Предпринятые затем многочисленные попытки предложить единую терминологию, дать определение качеству жизни, а также разработать систему его оценки [1] до настоящего времени оказались безуспешными. Это объясняется тем, что данная характеристика многогранна и во многом субъективна [2]. В данном случае играет роль не только наличие ограничений, вызванных болезнью, либо осложнений после проведенного лечения, но и эмоциональное состояние пациента, его социальное благополучие и ряд других факторов.

В литературе можно найти как минимум 4 варианта определения качества жизни, обусловленного здоровьем человека. Согласно R. Nays с соавт. [3], качество жизни – это то, насколько хорошо человек оценивает налаженность своей жизни, т. е. определяет свое благополучие в физической, психической и социальной сферах. По мнению других авторов, это всеобъемлющая концепция, включающая все факторы, которые влияют на жизнь человека. При этом учитываются только те факторы, которые касаются здоровья человека и оказывают влияние на его жизнь [4]. S. Ebrahim с соавт. [5] считают, что определение должно включать только те аспекты субъективной оценки своего состояния, которые связаны с влиянием либо заболевания, либо лечения. Также существует оценочное определение, согласно которому качество жизни представляется в виде шкалы (QUALY), где ноль – смерть, единица – здоровый человек. Любые значения меньше единицы отражают снижение качества жизни [6].

Начиная с 1980-х годов определение качества жизни все чаще используется в клинических исследованиях как наиболее важный маркер при сравнении эффективности различных подходов в лечении. Особенно это актуально для онкологии, где функциональные результаты являются вторыми по значимости после показателя выживаемости, преобладая над первичным опухолевым ответом (ASCO, NCI, 1996). Американское общество онкологов утвердило критерии оценки лечения в онкологии, согласно которым выделяют раковоспецифические и функциональные результаты [7]. Более того, оценка качества жизни возможна при проведении рандомизированных исследований. Так, например, рандомизированное исследование, в котором оценивался данный критерий у пациентов с лейкемией, доказало, что лечение иматинибом ассоциировано с лучшей переносимостью по сравнению с терапией интерфероном [8]. Это позволяет широко использовать данный параметр в исследовательской практике с хорошим уровнем планирования и доказательности.

Успешность ранней диагностики, а также эффективность проводимого лечения привели к тому, что около 70 % онкологических пациентов живут более 5 лет с момента постановки диагноза [9]. Тем не менее выживаемость в данном случае не означает полного благополучного состояния данной категории пациентов, поскольку наряду с хорошими результатами у них может отмечаться значительное снижение качества жизни, обусловленное наличием выраженных функциональных нарушений. Более того, только информирование о выявленном злокачественном новообразовании приводит к тяжелому эмоциональному стрессу у 35–38 % людей [10]. Радикальное лечение зачастую связано не только с послеоперационными осложнениями, влияющими на физические возможности пациента в раннем и позднем послеоперационном периодах, но и оказывает влияние на его психологический и профессиональный статус, затрудняя социальную адаптацию [11]. Такие люди нуждаются в мультидисциплинарной реабилитации, целью которой является полная адаптация к условиям жизни «после болезни», начиная с коррекции функциональных нарушений, психологической поддержки и заканчивая помощью в профессиональной реализации [12]. Объективная оценка уровня качества жизни пролеченных пациентов позволяет установить, насколько данные нарушения снижают качество жизни человека, и определить необходимость дополнительного лечения, направленного на коррекцию функциональных нарушений либо на проведение специализированной реабилитации.

Постепенный рост релевантности данного критерия приводит к тому, что различные медицинские сообщества воспринимают качество жизни как один из важнейших параметров проводимого лечения. Руководство Немецкой урологической ассоциации объявило сохранение качества жизни основной терапевтической целью. A. Shmick с соавт. [13] провели опрос среди уроло-

гов, применяют ли они в своей практике показатель оценки качества жизни. Согласно результатам данного исследования, несмотря на то что большинство врачей использовали этот критерий, многие из них не обладали достаточными знаниями в данном вопросе. Наиболее часто этот критерий оценивали у пациентов, страдающих раком предстательной железы (РПЖ), с целью выбора тактики лечения и наблюдения.

Согласно последним данным, уровень качества жизни может иметь прогностическое значение в прогнозировании выживаемости онкологических пациентов. Это подтверждают в своих работах не только онкологи, но и ученые других медицинских специальностей. По их мнению, уровень физической активности после проведенного лечения может быть ассоциирован с продолжительностью выживаемости, являясь одним из прогностических факторов [14]. Это подтверждается также результатами исследования EORTC, согласно которым физическая активность является независимым прогностическим фактором выживаемости [15]. С. С. Gotay с соавт. [16] выявили возможные причины взаимосвязи уровня качества жизни онкологических пациентов и их выживаемости. Во-первых, качество жизни, по их мнению, является более специфичным и разносторонним критерием, чем уровень токсичности после проведенного лечения либо общий статус пациента. Во-вторых, оценка данного параметра перед началом лечения может выявить возможные негативные предпосылки, а оценка после лечения позволяет определить психологическое состояние пациента и его отношение к проведенной диагностике, непосредственно лечению и его результатам. Также, согласно последним публикациям, качество жизни является уникальным параметром, позволяющим определить общее физическое и психологическое состояние человека, которое, безусловно, может оказывать влияние на вероятность прогрессирования заболевания и выживаемость онкологических пациентов [17].

Наиболее распространенными инструментами для оценки качества жизни пациента являются специализированные опросники. Изначально они использовались в психиатрии в виде психометрических шкал и представляли собой протокол беседы врача и пациента. На сегодняшний день создание специализированного опросника – это трудоемкая процедура, которая состоит из подбора специализированных вопросов, их стандартизации и применения на больших выборках пациентов. Опросник должен соответствовать ряду требований, таким как простота изложения и заполнения, применимость на конкретном популяционном уровне, краткость и т. д., а также обладать надежностью, специфичностью и чувствительностью, что соответствует критериям GCP (Good Clinical Practice) [18]. По мнению ряда авторов, при разработке современных инструментов оценки качества жизни необходимо учитывать не только описанные выше критерии, но и отношение пациента к конкретным аспектам его состояния, которые имеют наибольшее значение в его жизни. Подобный подход позволяет индивидуализировать систему оценки без навязывания человеку общепринятой системы ценностей и их значимости [19]. Таким образом, современная тенденция заключается в переходе от стандартизованности к индивидуализации опросников [20]. В свою очередь они могут быть общими и применяться как у здоровых, так и у больных людей независимо от возраста, патологии и применяемого лечения либо специализированными (содержащими специфические разделы, касающиеся особенностей заболевания, вариантов лечения и возможных побочных реакций) – для оценки состояния и результатов лечения конкретного заболевания. К общим опросникам можно отнести европейский опросник качества жизни (European Quality of Life Scale) [21], опросник Всемирной организации здравоохранения (WHOQOL) [22] и др. К специализированным опросникам, применяемым в онкологии, можно отнести опросник Европейской организации по изучению и лечению рака (EORTC) с различными модулями (в зависимости от локализации патологии). Таким образом, оценка качества жизни с использованием специализированных инструментов необходима не только для определения эффективности новых методов лечения, но и для наблюдения за пролеченными больными как при проведении клинических исследований, так и в ежедневном режиме.

Высокая заболеваемость РПЖ обуславливает интенсивное развитие диагностики и лечения данной патологии, а также рост их эффективности. По данным зарубежных авторов, смертность от РПЖ в последние годы имеет тенденцию к снижению вследствие проводимых программ скрининга, а также эффективного лечения различных форм РПЖ [23, 24]. По данным P. Stattin

с соавт. [24], 10-летняя раковоспецифическая смертность пациентов группы низкого и промежуточного риска, пролеченных по поводу РПЖ, составляет менее 5 %. Скрининг РПЖ в Республике Беларусь показал, что для большинства его вновь выявленных форм характерны I и II стадии. Это объясняет снижение смертности и увеличение количества радикально пролеченных пациентов [25]. На сегодняшний день, по данным Белорусского канцер-регистра, 5-летняя выживаемость пациентов с РПЖ I и II стадий составляет 91,5 %, с РПЖ III стадии – 74,7 %, что свидетельствует о хороших онкологических результатах проводимого лечения [26] (рис. 1).

Основными методами лечения локализованных форм на сегодняшний день являются радикальная простатэктомия (РПЭ) с лимфодиссекцией, дистанционная лучевая терапия (ДЛТ) IMRT/VMAT с суммарной очаговой дозой (СОД) 74–80 Гр в режиме гипофракционирования с или без антиандрогенной терапии, брахитерапия высокой мощностью дозы (БтВМД) в режиме монотерапии с разовой очаговой дозой (РОД) 11,5 Гр, сочетанная лучевая терапия БтВМД (РОД 11,5 Гр) + ДЛТ (СОД 44–45 Гр). Каждый из данных методов, обладая хорошими онкологическими результатами [27–29], сопряжен с риском послеоперационных осложнений либо лучевой токсичности со стороны мочеполовой системы и кишечника, что приводит к снижению качества жизни пациента. Таким образом, при выборе оптимального метода лечения необходимо учитывать не только онкологические результаты, но и возможные побочные реакции у пациента.

Существует достаточное количество работ, целью которых была оценка качества жизни после проведенной РПЭ и ДЛТ. С. Jeldres с соавт. [30] оценили в проспективном исследовании качество жизни пациентов с РПЖ низкого риска при активном наблюдении и после выполненной РПЭ. В качестве инструментов оценки использовались опросники EPIC (Expanded Prostate Cancer Index Composite) и SF-18 (36-item RAND Medical Outcomes Study Short Form). У пациентов группы РПЭ на протяжении всего исследования, длительность которого составила 3 года, имелись более выраженные нарушения со стороны мочевыделительной и половой функций, чем у лиц группы активного наблюдения. J. Fridriksson с соавт. [31] также пришли к выводу, что риск побочных реакций после проведенного хирургического и лучевого лечения остается достаточно высоким, при этом после РПЭ преобладают нарушения со стороны мочевыделительной системы, а после лучевой терапии – нарушения со стороны кишечника.

В популяционном исследовании S. Carlsson с соавт. [32] оценены функциональные результаты спустя 12 мес. после проведенного лечения по поводу РПЖ. В качестве опросника использо-

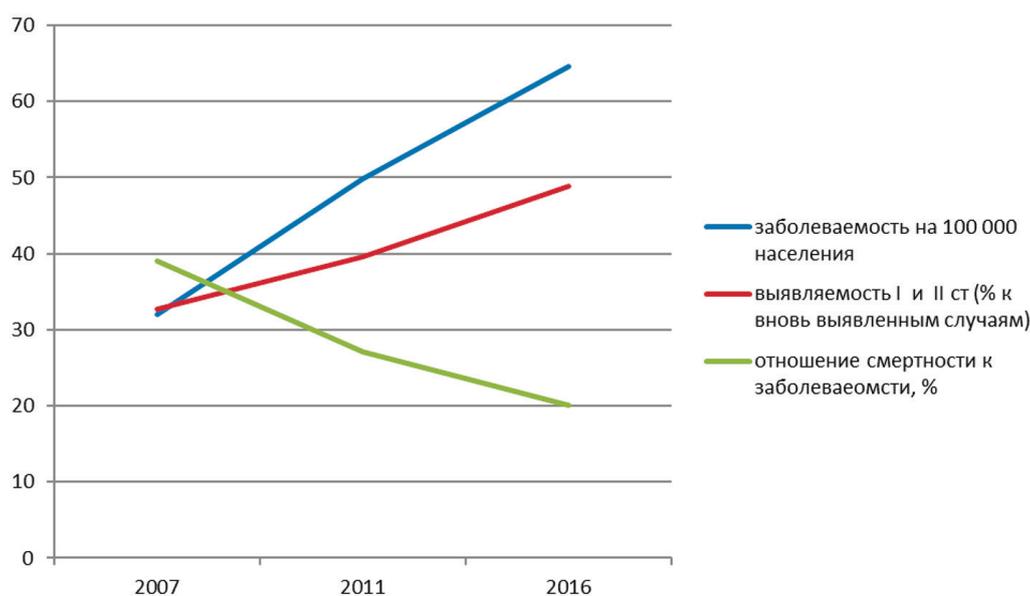


Рис. 1. Соотношение показателей роста заболеваемости с преобладанием локализованных форм опухоли и снижения смертности у пациентов, страдающих раком предстательной железы

Fig. 1. Ratio of scores of the morbidity growth with the localized tumor predominance with decreasing the mortality in prostate cancer patients

вали QUFW94 (Questionnaire Umeå Fransson Widmark 1994). В исследование были включены пациенты после РПЭ, лучевой терапии и гормонального лечения, мужчины без РПЖ составили группу контроля. В результате около 80 % опрошенных отмечали эректильную дисфункцию, 20 % – недержание мочи и 14 % испытывали проблемы с кишечником. Схожие результаты о влиянии на эректильную, мочевыделительную функцию после РПЭ были получены в другой работе E. Johansson с соавт. [33], целью которой являлось сравнение отдаленных функциональных результатов в исследовании SPCG-4 (Scandinavian Prostate Cancer Group Study Number 4). M. Sanda с соавт. [34] подтвердили, что любой метод лечения пациентов с РПЖ оказывает влияние на качество жизни не только мужчины, но и его супруги. В исследование входили мужчины ($n = 1201$) и их супруги ($n = 625$). В качестве методов лечения применяли РПЭ с нервосберегающей методикой и без нее, дистанционную лучевую терапию с гормонотерапией и без гормонотерапии, а также брахитерапию низкой мощностью дозы и сочетанную лучевую терапию (СЛТ). Оценка качества жизни проводилась посредством опросника EPIC и SCA (Service Satisfaction Scale for Cancer Care). В итоге было отмечено, что нервосберегающая РПЭ характеризовалась меньшим количеством осложнений по сравнению с обычной РПЭ, а недержание мочи и эректильная дисфункция негативно влияли на качество жизни не только пациентов, но и их партнеров.

Большой вклад в сравнение качества жизни пациентов активного наблюдения и пролеченных радикально внесли J. Donovan с соавт. [35]. Согласно полученным результатам, в сравнении с активным мониторингом у 4 мужчин после РПЭ и у 8 пациентов после лучевой терапии возможно развитие одного случая эректильной дисфункции спустя 2 года. Аналогично было посчитано, что один случай недержания мочи спустя 2 года после лечения вероятен у 5 мужчин после РПЭ и у 143 пациентов после лучевой терапии.

Полученные результаты свидетельствует о большем негативном влиянии РПЭ на отдаленные результаты. Данные о степени функциональных нарушений после проведения БтВМД и СЛТ крайне ограничены, что создает трудности при выборе оптимальной тактики лечения с применением указанных методов. В работе M. Morgan с соавт. [36] исследовалось качество жизни пациентов после выполненной брахитерапии низкой мощностью дозы, монотерапии БтВМД и СЛТ. Всего в исследовании приняло участие 165 пациентов, изменения оценивали посредством заполнения опросников American Urological Association symptom score (AUASS) и Expanded Prostate Index for Prostate Cancer – Clinical Practice (EPIC-CP) через 2, 6, 12, 18, 24 и 30 мес. Авторы пришли к выводу, что качество жизни после выполненной монотерапии БтВМД и СЛТ лучше, чем после выполнения брахитерапии низкой мощностью дозы, особенно в раннем периоде (спустя 2–6 мес.).

При оценке функциональных результатов проведенного лечения немаловажным является выбор оптимального инструмента – опросника. На сегодняшний день разработано достаточно много тест-систем для изучения качества жизни пациентов, основной целью которых является наиболее полная оценка физического, психологического и социального состояния пациента в удобной и понятной для него форме. В своем обзоре существующих методик оценки качества жизни у пролеченных онкологических пациентов M. Leeuwen с соавт. [37] приходят к выводу о необходимости дальнейшего усовершенствования этих методик, в частности, для таких локализаций, как молочная железа, предстательная железа и колоректальный рак. Так, например, опросник EORTC QLQ-C30 (European Organisation for Research and Treatment of Cancer) с модулями, относящимися к определенным системам организма, оценивает в основном возникшие в результате проведенного лечения осложнения, без учета отдаленных последствий [38]. Анкеты QLACS (Quality of Life in Adult Cancer Survivors) [39], SLDS-C (Satisfaction with Life Domains Scale for Cancer) [40] и др. в основном сконцентрированы на оценке отдаленного психологического состояния пролеченных пациентов, без должной оценки физического статуса, связанного с последствиями проведенного лечения [41]. Для оценки качества жизни пациентов, пролеченных по поводу РПЖ, разработаны специальные опросники – UCLA PCI (UCLA Prostate Index), EORTC QLQ-PR25, EPIC. Все эти тест-системы обладают определенными особенностями, которые необходимо учитывать при их использовании. Так, например, опросник UCLA PCI, оценивающий в основном функцию мочеиспускания по выраженности недержания мочи, без учета лучевых

вариантов лечения, является относительно устаревшим [42]. EPIC можно рассматривать в качестве улучшенного варианта UCLA PCI, в котором учитывается функция кишечника, большее внимание уделяется функции мочеиспускания и другим аспектам проведенного лечения [43]. Все эти опросники доказали свою надежность и широко применяются в зарубежных клиниках, а соответственно, могут быть рекомендованы к применению. На основании данных инструментов С. Ракул с соавт. [44] разработали и апробировали «Универсальный опросник качества жизни больных раком предстательной железы» с высоким уровнем надежности для применения в условиях СНГ. Разработанная авторами анкета включает 4 раздела: «Функция мочеиспускания», «Функция кишечника», «Половая функция», «Гормональная функция», а также ряд подразделов для более точной оценки степени нарушения тех или иных функций организма и степени их влияния на социальную жизнь пациентов. Для всех вопросов предлагаются простые числовые варианты ответов для объективной оценки степени нарушения. Авторами была оценена и доказана высокая надежность и внутренняя согласованность опросника с использованием корреляционного анализа и коэффициента Кронбаха. Учитывая доказанную эффективность и адаптированность для использования в урологических и онкоурологических стационарах, данный опросник было решено использовать и в нашей работе.

Цель исследования – оценить качество жизни пациентов, радикально пролеченных по поводу рака предстательной железы, с использованием специализированного инструмента – опросника.

Материалы и методы исследования. Материалом для данной работы послужили результаты анкетирования пациентов, которым выполнялось радикальное лечение по поводу РПЖ в 2017–2018 гг. на базе РНПЦ онкологии и медицинской радиологии им. Н. Н. Александрова, Витебского областного онкологического диспансера и Витебской областной клинической больницы. В нашем исследовании приняло участие 148 человек. Пациенты были разделены на три группы, в зависимости от вида лечения: РПЭ (66 пациентов), СЛТ (51), БтВМД (31). Средний возраст пациентов, входивших в группы лучевой терапии, составил 70 лет, в группе РПЭ – 64 года. Метод лечения определяли в зависимости от группы риска прогрессирования РПЖ. В исследовании были включены пациенты с низким и промежуточным риском. Пациентам с низким риском выполнялась БтВМД, пациентам с промежуточным риском – СЛТ либо РПЭ. РПЭ проводили по стандартной методике открытым позадилоном доступом с лимфодиссекцией, брахитерапию – с помощью аппаратов Microselectron HDR V3 и Flexitron с применением систем планирования SWIFT и Oncentra Prostate (Nucletron), разовая очаговая доза – 11,5 Гр. Дистанционное облучение выполняли на установках Trilogy iX и Unique (Verian) с разовой очаговой дозой 2 Гр и суммарной очаговой дозой 44–46 Гр. Качество жизни оценивали с помощью «Универсального опросника качества жизни больных раком предстательной железы» [44]. При его заполнении оценивали функцию мочеиспускания, функцию кишечника, половую функцию, а также суммарную функцию. Гормональную функцию не изучали, так как в исследовании не участвовали пациенты, получавшие максимальную андрогенную блокаду. Качество жизни оценивали посредством заполнения опросника спустя 8–12 мес. после проведенного лечения. Такой временной диапазон был выбран исходя из того, что при оценке данных функций спустя 12 мес. после выполненного лечения не выявлено достоверных различий [45]. После получения согласия пациентов ими заполнялись анкеты во время поликлинического приема либо удаленно (использовалась почтовая рассылка).

После заполнения опросника полученные варианты ответов переводили в балльную шкалу и оценивали непосредственно путем суммирования баллов. Критерии исследования соответствовали разделам: «Функция мочеиспускания», «Половая функция» (у пациентов после РПЭ), «Функция кишечника» (у пациентов после лучевой терапии). Сумма баллов отражала степень влияния функциональных нарушений на качество жизни пациента. Более высокие значения показателей соответствовали выраженному снижению качества жизни, обусловленному наличием нарушений. При выявлении низкого уровня качества жизни, обусловленного функциональными нарушениями, возможна дополнительная оценка каждой функции с определением степени ее нарушения.

Статистические характеристики созданных выборок оценивали с помощью программного обеспечения Statistica 10. Поскольку полученные данные имели ненормальное распределение, для статистического анализа и сравнения медиан использовали критерий Краскела–Уоллиса.

Результаты и их обсуждение. При анализе результатов получены статистически значимые различия между группами монотерапии БтВМД и СЛТ по сравнению с РПЭ, с тенденцией к ухудшению после РПЭ ($p < 0,01$) (рис. 2, 3). Различий между группами монотерапии БтВМД и СЛТ не выявлено. Различий в функции кишечника между пациентами исследуемых групп также не обнаружено (рис. 4).

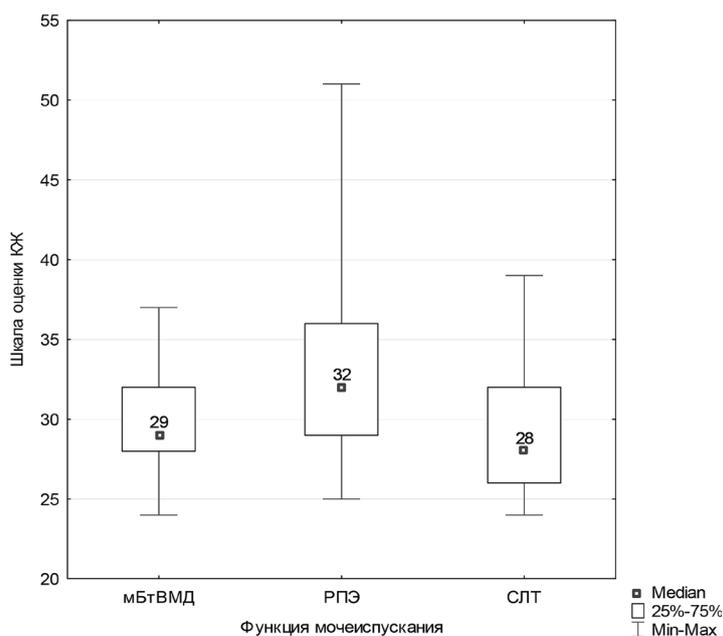


Рис. 2. Соотношение баллов при нарушении функции мочеиспускания у пациентов исследуемых групп

Fig. 2. Ratio of scores of impairment of the urinary function in the study patients

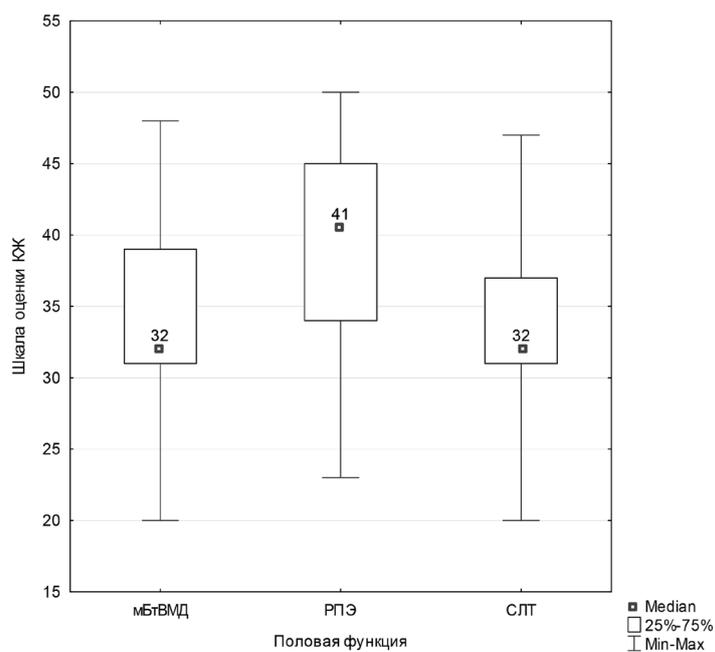


Рис. 3. Соотношение баллов при нарушении половой функции у пациентов исследуемых групп

Fig. 3. Ratio of scores of impairment of the erectile function in the study patients

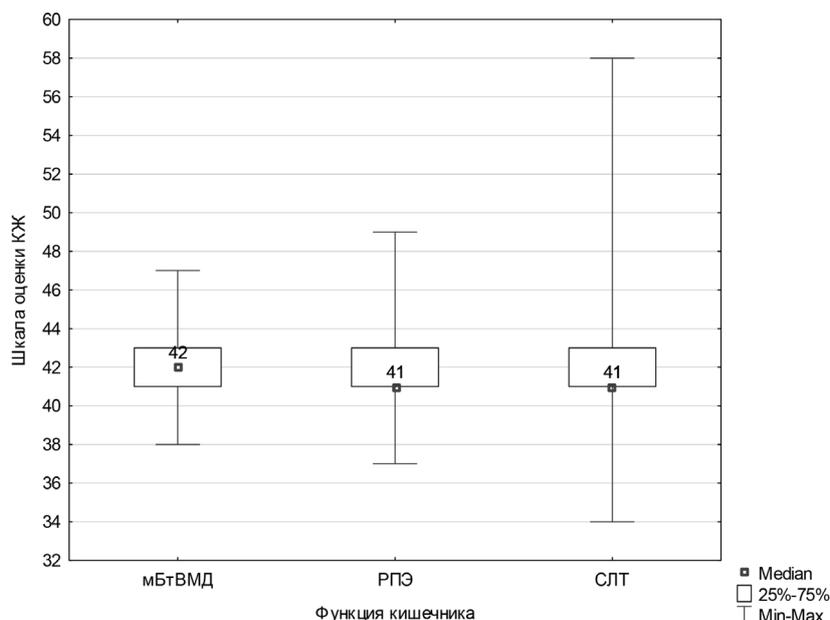


Рис. 4. Соотношение баллов при нарушении функции кишечника у пациентов исследуемых групп

Fig. 4. Ratio of scores of the intestinal dysfunction in the study patients

Таким образом, после выполненной РПЭ качество жизни пациентов ухудшилось по сравнению с таковым в группах лучевой терапии ($p < 0,01$). В основном это было связано с более частым недержанием мочи и эректильной дисфункцией. Следует отметить, что, несмотря на выраженные нарушения мочеиспускания у ряда пациентов, включая недержание мочи, они оценивали свое качество жизни как удовлетворительное. Это позволяло оценить степень влияния функциональных нарушений на удовлетворенность результатами проведенного лечения.

Заключение. Полученные результаты позволяют оценить влияние на качество жизни пациентов каждого из исследуемых методов лечения, а также определить необходимость дополнительного лечения, направленного на коррекцию функциональных нарушений либо на проведение специализированной реабилитации. Учитывая полученные ранее данные о сопоставимых онкологических результатах рассмотренных подходов [46], можно сделать вывод о том, что брахитерапия в монорежиме и СЛТ сопряжены с лучшими функциональными результатами и могут быть рекомендованы в качестве альтернативы хирургическому лечению у определенных групп пациентов.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список использованных источников

1. The development of the WHO quality of life assessment instruments (the WHOQOL) / WHOQOL Group // Quality of life assessment: international perspectives : proceedings of the joint-meeting organized by the World Health Organization and the Fondation IPSEN in Paris, July 2–3, 1993 / ed. : J. Orley, W. Kuyken. – Berlin, 1994. – P. 41–57.
2. Базисные принципы и методология доказательной медицины / В. И. Петров // Вестн. Волгоград. гос. мед. ун-та. – 2011. – № 2. – С. 3–9.
3. Hays, R. D. Measurement and modeling of health-related quality of life / R. D. Hays, B. B. Reeve // International Encyclopedia of public health / ed. : K. Heggenhougen, S. R. Quah. Amsterdam ; Boston, 2008. – P. 241–252.
4. Torrance, G. W. Utility approach to measuring health-related quality of life / G. W. Torrance // J. Chron. Dis. – 1987. – Vol. 40, N 6. – P. 593–600. [https://doi.org/10.1016/0021-9681\(87\)90019-1](https://doi.org/10.1016/0021-9681(87)90019-1)
5. Ebrahim, S. Clinical and public health perspectives and applications of health-related quality of life measurement / S. Ebrahim // Soc. Sci. Med. – 1995. – Vol. 41, N 10. – P. 1383–1394. [https://doi.org/10.1016/0277-9536\(95\)00116-O](https://doi.org/10.1016/0277-9536(95)00116-O)
6. The role and cost-effectiveness analysis in health and medicine / L. B. Russel [et al.] // JAMA. – 1996. – Vol. 276, N 14. – P. 1172–1177. <https://doi.org/10.1001/jama.1996.03540140060028>
7. Outcomes of cancer treatment for technology assessment and cancer treatment guidelines / American Society of Clinical Oncology // J. Clin. Oncol. – 1996. – Vol. 14, N 2. – P. 671–679. <https://doi.org/10.1200/JCO.1996.14.2.671>

8. Health-related quality of life assessment and reported outcomes in leukaemia randomized controlled trials: a systematic review to evaluate the added value in supporting clinical decision-making / F. Efficace [et al.] // *Eur. J. Cancer.* – 2008. – Vol. 44, N 11. – P. 1497–1506. <https://doi.org/10.1016/j.ejca.2008.03.017>
9. Cancer incidence and mortality projections in the UK until 2035 / C. R. Smittenaar [et al.] // *Br. J. Cancer.* – 2016. – Vol. 115, N 9. – P. 1147–1155. <https://doi.org/10.1038/bjc.2016.304>
10. High levels of untreated distress and fatigue in cancer patients / L. E. Carlson [et al.] // *Br. J. Cancer.* – 2004. – Vol. 90, N 12. – P. 2297–2304. <https://doi.org/10.1038/sj.bjc.6601887>
11. Are fatigue, depression and anxiety associated with labour market participation among patients diagnosed with haematological malignancies? A prospective study / T. A. Horsboel [et al.] // *Psycho-Oncology.* – 2015. – Vol. 24, N 4. – P. 408–415. <https://doi.org/10.1002/pon.3658>
12. Toward a national initiative in cancer rehabilitation: recommendations from subject matter expert group / N. L. Stout [et al.] // *Arch. Phys. Med. Rehabil.* – 2016. – Vol. 97, N 11. – P. 2006–2015. <https://doi.org/10.1016/j.apmr.2016.05.002>
13. Attitudes of urologists towards HRQOL and its clinical use / A. Schmick [et al.] // *BMC Urol.* – 2017. – Vol. 17. – Art. 46. <https://doi.org/10.1186/s12894-017-0235-1>
14. Blazeby, J. M. The prognostic value of quality of life scores during treatment for esophageal cancer / J. M. Blazeby, S. T. Brookes, D. Alderson // *Gut.* – 2001. – Vol. 49, N 2. – P. 227–230. <http://dx.doi.org/10.1136/gut.49.2.227>
15. EORTC clinical groups: baseline quality of life as a prognostic indicator of survival: a meta-analysis of individual patient data from EORTC clinical trials / C. Quinten [et al.] // *Lancet. Oncol.* – 2009. – Vol. 10, N 9. – P. 865–871. [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(09\)70200-1](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(09)70200-1)
16. The prognostic significance of patient-reported outcomes in cancer clinical trials / C. C. Gotay [et al.] // *J. Clin. Oncol.* – 2008. – Vol. 26, N 8. – P. 1355–1363. <https://doi.org/10.1200/JCO.2007.13.3439>
17. Jylhä, M. What is self-rated health and why does it predict mortality? Towards a unified conceptual model / M. Jylhä // *Soc. Sci. Med.* – 2009. – Vol. 69, N 3. – P. 307–316. <https://doi.org/10.1016/j.socscimed.2009.05.013>
18. Guideline for good clinical practice. ICN harmonized tripartite guideline. – Geneva : WHO, 1996. – 56 p.
19. Quality-of-life measurement in advanced cancer: assessing the individual / D. Waldron [et al.] // *J. Clin. Oncol.* – 1999. – Vol. 17, N 11. – P. 3603–3611. <https://doi.org/10.1200/JCO.1999.17.11.3603>
20. The use, feasibility and psychometric properties of an individualized quality-of-life instrument: a systematic review of the SEIQoL-DW / L. Wettergren [et al.] // *Qual. Life. Res.* – 2009. – Vol. 18, N 6. – P. 737–746. <https://doi.org/10.1007/s11136-009-9490-2>
21. Anderson, R. T. Critical review of the international assessments of health-related quality of life / R. T. Anderson, N. K. Aaronson, D. Wilkin // *Qual. Life. Res.* – 1993. – Vol. 2, N 6. – P. 369–395. <https://doi.org/10.1007/BF00422215>
22. Australian WHOQoL instruments: user's manual and interpretation guide / B. Murphy [et al.]. – Melbourne, Australian WHOQoL Field Study Centre, 2000.
23. The prostate cancer conundrum revisited: treatment changes and prostate cancer mortality declines / R. Etzioni [et al.] // *Cancer.* – 2012. – Vol. 118, N 23. – P. 5955–5963. <https://doi.org/10.1002/cncr.27594>
24. Prostate cancer mortality in areas with high and low prostate cancer incidence / P. Stattin [et al.] // *J. Nat. Cancer Inst.* – 2014. – Vol. 106, N 3. – P. dju007. <https://doi.org/10.1093/jnci/dju007>
25. Скрининг рака предстательной железы в Республике Беларусь / С. А. Красный [и др.]. – Минск : Принтхаус, 2015. – 158 с.
26. Статистика онкологических заболеваний в Республике Беларусь 2007–2016: Белорусский канцер-регистр / А. Е. Океанов [и др.] ; под ред. О. Г. Сукошко. – Минск : РНПЦ ОМР им. Н. Н. Александрова, 2017. – 286 с.
27. Observation versus initial treatment for men with localized, low-risk prostate cancer: a cost-effectiveness analysis / J. Hayes [et al.] // *Ann. Int. Med.* – 2013. – Vol. 158, N 12. – P. 853–860. <https://doi.org/10.7326/0003-4819-158-12-201306180-00002>
28. Dose-escalated irradiation and overall survival in men with nonmetastatic prostate cancer / A. Kalbasi [et al.] // *JAMA Oncol.* – 2015. – Vol. 1, N 7. – P. 897–906. <https://doi.org/10.1001/jamaoncol.2015.2316>
29. High-dose-rate monotherapy for localized prostate cancer: 10-year results / H. Hauswald [et al.] // *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* – 2016. – Vol. 94, N 4. – P. 667–674. <https://doi.org/10.1016/j.ijrobp.2015.07.2290>
30. Prospective quality of life outcomes for low-risk prostate cancer: active surveillance versus radical prostatectomy / C. Jeldres [et al.] // *Cancer.* – 2015. – Vol. 121, N 14. – P. 2465–2473. <https://doi.org/10.1002/cncr.29370>
31. Long-term adverse effects after curative radiotherapy and radical prostatectomy: population-based nationwide register study / J. Fridriksson [et al.] // *Scand. J. Urol.* – 2016. – Vol. 50, N 5. – P. 338–345. <https://doi.org/10.1080/21681805.2016.1194460>
32. Population-based study of long-term functional outcomes after prostate cancer treatment / S. Carlsson [et al.] // *BJU Int.* – 2016. – Vol. 117, N 6B. – P. E36–E45. <https://doi.org/10.1111/bju.13179>
33. Long-term quality-of-life outcomes after radical prostatectomy of watchful waiting: the Scandinavian Prostate Cancer Group-4 randomized trial / E. Johansson [et al.] // *Lancet Oncol.* – 2011. – Vol. 12, N 9. – P. 891–899. [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(11\)70162-0](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(11)70162-0)
34. Quality of life and satisfaction with outcome among prostate-cancer survivors / M. Sanda [et al.] // *N. Engl. J. Med.* – 2008. – Vol. 358. – P. 1250–1261. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa074311>
35. Patient-reported outcomes after monitoring, surgery, or radiotherapy for prostate cancer / J. Donovan [et al.] // *N. Engl. J. Med.* – 2016. – Vol. 375, N 15. – P. 1425–1437. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1606221>
36. Brachytherapy for localized prostate cancer in the modern era: a comparison of patient-reported quality of life outcomes among different techniques / M. Morgan [et al.] // *J. Contemp. Brachytherapy.* – 2018. – Vol. 10, N 6. – P. 495–502. <https://doi.org/10.5114/jcb.2018.81024>

37. Understanding the quality of life (QOL) issues in survivors of cancer: towards the development of an EORTC QOL cancer survivorship questionnaire / M. Leeuwen [et al.] // *Health Qual. Life Outcomes*. – 2018. – Vol. 16, N 1. – P. 114. <https://doi.org/10.1186/s12955-018-0920-0>
38. The European Organization for Research and Treatment of Cancer QLQ-C30: a quality-of-life instrument for use in international clinical trials in oncology / N. Aaronson [et al.] // *J. Nat. Cancer Inst.* – 1993. – Vol. 85, N 5. – P. 365–376. <https://doi.org/10.1093/jnci/85.5.365>
39. Pearce, N. J. Measuring quality of life in cancer survivors: a methodological review of existing scales / N. J. Pearce, R. Sanson-Fisher, H. Campbell // *Psycho-Oncology*. – 2007. – Vol. 17, N 7. – P. 629–640. <https://doi.org/10.1002/pon.1281>
40. Baker, F. Development of the Satisfaction with Life Domains Scale for Cancer / F. Baker, B. Curbow, J. R. Wingard // *J. Psychosoc. Oncol.* – 2008. – Vol. 10, N 3. – P. 75–90. https://doi.org/10.1300/j077v10n03_05
41. Avis, N. E. Evaluation of the Quality of Life in Adult Cancer Survivors (QLACS) scale for long-term cancer survivors in a sample of breast cancer survivors / N. E. Avis, E. Ip, K. L. Foley // *Health Qual. Life Outcomes*. – 2006. – Vol. 4. – Art. 92. <https://doi.org/10.1186/1477-7525-4-92>
42. The UCLA Prostate Cancer Index: development, reliability, and validity of a health-related quality of life measure / M. Litwin [et al.] // *Med. Care*. – 1998. – Vol. 36, N 7. – P. 1002–1012. <https://doi.org/10.1097/00005650-199807000-00007>
43. Measuring and predicting prostate cancer related quality of life changes using the Expanded Prostate Cancer Index Composite for Clinical Practice (EPIC-CP) / J. Chipman [et al.] // *J. Urol.* – 2014. – Vol. 191, N 3. – P. 638–645. <https://doi.org/10.1016/j.juro.2013.09.040>
44. Апробация «Универсального опросника качества жизни больных раком предстательной железы» / С. А. Пакул [и др.] // *Онкоурология*. – 2009. – Т. 5, № 2. – С. 64–73.
45. Robot-assisted laparoscopic prostatectomy versus open radical retropubic prostatectomy: 24-month outcomes from a randomized controlled study / G. D. Coughlin [et al.] // *Lancet Oncol.* – 2018. – Vol. 19, N 8. – P. 1051–1060. [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(18\)30357-7](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(18)30357-7)
46. Брахитерапия высокой мощностью дозы при раке предстательной железы / С. О. Голдыцкий [и др.] // *Здравоохранение*. – 2019. – № 3. – С. 40–45.

References

1. WHOQOL Group. The development of the WHO quality of life assessment instruments (the WHOQOL). *Quality of life assessment: international perspectives: proceedings of the joint-meeting organized by the World Health Organization and the Fondation IPSEN in Paris, July 2–3, 1993*. Berlin, 1994, pp. 41–57.
2. Petrov V. I. Basic principles and methodology of evidence-based medicine. *Vestnik Volgogradskogo gosudarstvennogo meditsinskogo universiteta* [Bulletin of Volgograd State Medical University], 2011, no. 2, pp. 3–9 (in Russian).
3. Hays R. D., Reeve B. B. Measurement and modeling of health-related quality of life. *International Encyclopedia of public health*. Amsterdam, Boston, 2008, pp. 241–252.
4. Torrance G. W. Utility approach to measuring health-related quality of life. *Journal of Chronic Disease*, 1987, vol. 40, no. 6, pp. 593–600. [https://doi.org/10.1016/0021-9681\(87\)90019-1](https://doi.org/10.1016/0021-9681(87)90019-1)
5. Ebrahim S. Clinical and public health perspectives and applications of health-related quality of life measurement. *Social Science Medicine*, 1995, vol. 41, no. 10, pp. 1383–1394. [https://doi.org/10.1016/0277-9536\(95\)00116-0](https://doi.org/10.1016/0277-9536(95)00116-0)
6. Russel L. B., Gold M. R., Siegel J. E., Daniels N., Weinstein M. C. The role and cost-effectiveness analysis in health and medicine. *JAMA: The Journal of the American Medical Association*, 1996, vol. 276, no. 14, pp. 1172–1177. <https://doi.org/10.1001/jama.1996.03540140060028>
7. American Society of Clinical Oncology. Outcomes of cancer treatment for technology assessment and cancer treatment guidelines. *Journal of Clinical Oncology*, 1996, vol. 14, no. 2, pp. 671–679. <https://doi.org/10.1200/JCO.1996.14.2.671>
8. Efficace F., Kemmler G., Vignetti M., Mandelli F., Molica S., Holzner B. Health-related quality of life assessment and reported outcomes in leukaemia randomized controlled trials: a systematic review to evaluate the added value in supporting clinical decision making. *European Journal of Cancer*, 2008, vol. 44, no. 11, pp. 1497–1506. <https://doi.org/10.1016/j.ejca.2008.03.017>
9. Smittenaar C. R., Petersen K. A., Stewart K., Moitt N. Cancer incidence and mortality projections in the UK until 2035. *British Journal of Cancer*, 2016, vol. 115, no. 9, pp. 1147–1155. <https://doi.org/10.1038/bjc.2016.304>
10. Carlson L. E., Angen M., Cullum J., Goodey E., Koopmans J., Lamont L. [et al.]. High levels of untreated distress and fatigue in cancer patients. *British Journal of Cancer*, 2004, vol. 90, no. 12, pp. 2297–2304. <https://doi.org/10.1038/sj.bjc.6601887>
11. Horsboel T. A., Bültmann U., Nielsen C. V., Nielsen B., Andersen N. T., de Thurah A. Are fatigue, depression and anxiety associated with labour market participation among patients diagnosed with haematological malignancies? A prospective study. *Psycho-Oncology*, 2015, vol. 24, no. 4, pp. 408–415. <https://doi.org/10.1002/pon.3658>
12. Stout N. L., Silver J. K., Silver J. K., Raj V. S., Rowland Ju., Gerber L., Cheville A. [et al.]. Toward a national initiative in cancer rehabilitation: recommendations from subject matter expert group. *Archives of Physical Medicine and Rehabilitation*, 2016, vol. 97, no. 11, pp. 2006–2015. <https://doi.org/10.1016/j.apmr.2016.05.002>
13. Schmick A., Juergensen M., Rohde V., Katalinic A., Waldmann A. Attitudes of urologists towards HRQOL and its clinical use. *BMC Urology*, 2017, vol. 17, art. 46. <https://doi.org/10.1186/s12894-017-0235-1>
14. Blazeby J. M., Brookes S.T., Alderson D. The prognostic value of quality of life scores during treatment for esophageal cancer. *Gut*, 2001, vol. 49, no. 2, pp. 227–230. <http://dx.doi.org/10.1136/gut.49.2.227>

15. Quinten C., Coens C., Mauer M., Comte S., Sprangers M., Cleeland Ch., Osoba D., Bjordal K., Bottomley A. EORTC clinical groups: baseline quality of life as a prognostic indicator of survival: a meta-analysis of individual patient data from EORTC clinical trials. *Lancet Oncology*, 2009, vol. 10, no. 9, pp. 865–871. [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(09\)70200-1](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(09)70200-1)
16. Gotay C. C., Kawamoto C. T., Bottomley A., Efficace F. The prognostic significance of patient-reported outcomes in cancer clinical trials. *Journal of Clinical Oncology*, 2008, vol. 26, no. 8, pp. 1355–1363. <https://doi.org/10.1200/JCO.2007.13.3439>
17. Jylhä M. What is self-rated health and why does it predict mortality? Towards a unified conceptual model. *Social Science Medicine*, 2009, vol. 69, no. 3, pp. 307–316. <https://doi.org/10.1016/j.socscimed.2009.05.013>
18. *Guideline for Good Clinical Practice. ICN Harmonized Tripartite Guideline*. Geneva, World Health Organization, 1996. 56 p.
19. Waldron D., O’Boyle C. A., Kearney M., Moriarty M., Carney D. Quality-of-life measurement in advanced cancer: assessing the individual. *Journal Clinical Oncology*, 1999, vol. 17, no. 11, pp. 3603–3611. <https://doi.org/10.1200/JCO.1999.17.11.3603>
20. Wettergren L., Kettis-Lindblad Å., Sprangers M., Ring L. The use, feasibility and psychometric properties of an individualized quality-of-life instrument: a systematic review of the SEIQoL-DW. *Quality of Life Research*, 2009, vol. 18, no. 6, pp. 737–746. <https://doi.org/10.1007/s11136-009-9490-2>
21. Anderson R. T., Aaronson N. K., Wilkin D. Critical review of the international assessments of health-related quality of life. *Quality of Life Research*, 1993, vol. 2, no. 6, pp. 36, 9–395. <https://doi.org/10.1007/BF00422215>
22. Murphy B., Herrman H., Hawthorne G., Pinzone T., Evert H., Herrman H. *Australian WHOQoL instruments: User’s manual and interpretation guide*. Melbourne, Australian WHOQoL Field Study Centre, 2000.
23. Etzioni R., Gulati R., Tsoodikov A., Wever E. M., Penson D. F., Heijnsdijk E. A. M. [et al.]. The prostate cancer conundrum revisited: treatment changes and prostate cancer mortality declines. *Cancer*, 2012, vol. 118, no. 23, pp. 5955–5963. <https://doi.org/10.1002/cncr.27594>
24. Stattin P., Carlsson S., Vickers A., Hugosson J., Lilja H., Jonsson H. Prostate cancer mortality in areas with high and low prostate cancer incidence. *Journal of the National Cancer Institute*, 2014, vol. 106, no. 3, p. dju007. <https://doi.org/10.1093/jnci/dju007>
25. Krasnyi S. A., Sukonko O. G., Tarend’ D. T., Moiseev P. I., Polyakov S. L. *Prostate cancer screening in the Republic of Belarus*. Minsk, Printkhaus Publ., 2015. 158 p. (in Russian).
26. Okeanov A. E., Moiseev P. I., Levin L. F., Evmenenko A. A., Sukonko O. G. *Statistics of oncological diseases in the Republic of Belarus 2007–2016: Belarusian Cancer Register*. Minsk, Belarusian Republican Scientific and Practical Center of Oncology and Medical Radiology named after N. N. Alexandrov, 2017. 286 p. (in Russian).
27. Hayes J., Ollendorf D., Pearson S., Barry M. J., Kantoff Ph. W., Lee P. A., McMahon P. M. Observation versus initial treatment for men with localized, low-risk prostate cancer: a cost-effectiveness analysis. *Annals of Internal Medicine*, 2013, vol. 158, no. 12, pp. 853–860. <https://doi.org/10.7326/0003-4819-158-12-201306180-00002>
28. Kalbasi A., Li J., Berman A., Swisher-McClure S., Smaldone M., Uzzo R. G., Small D. S., Mitra N., Bekelman J. E. Dose-escalated irradiation and overall survival in men with nonmetastatic prostate cancer. *JAMA Oncology*, 2015, vol. 1, no. 7, pp. 897–906. <https://doi.org/10.1001/jamaoncol.2015.2316>
29. Hauswald H., Kamrava M., Fallon J., Wang P.-Ch., Park S.-Ju., Van T., Borja L., Steinberg M. L., Demanes D. J. High-dose-rate monotherapy for localized prostate cancer: 10-year results. *International Journal of Radiation Oncology*, 2016, vol. 94, no. 4, pp. 667–674. <https://doi.org/10.1016/j.ijrobp.2015.07.2290>
30. Jeldres C., Cullen J., Hurwitz L., Wolff E. M., Levie K. E., Odem-Davis K. [et al.]. Prospective quality of life outcomes for low-risk prostate cancer: active surveillance versus radical prostatectomy. *Cancer*, 2015, vol. 121, no. 14, pp. 2465–2473. <https://doi.org/10.1002/cncr.29370>
31. Fridriksson J., Folkvaljon Y., Nilsson P., Robinson D., Franck-Lissbrant I., Ehdaie B., Eastham J. A., Widmark A., Karlsson C. T., Stattin P. Long-term adverse effects after curative radiotherapy and radical prostatectomy: population-based nationwide register study. *Scandinavian Journal of Urology*, 2016, vol. 50, no. 5, pp. 338–345. <https://doi.org/10.1080/2168180.5.2016.1194460>
32. Carlsson S., Drevin L., Loeb S., Widmark A., Lissbrant I. F., Robinson D., Johansson E., Stattin P., Fransson P. Population-based study of long-term functional outcomes after prostate cancer treatment. *BJU International*, 2016, vol. 117, no. 6B, pp. E36–E45. <https://doi.org/10.1111/bju.13179>
33. Johansson E., Steineck G., Holmberg L., Johansson J.-E., Nyberg T., Ruutu M., Bill-Axelsson A. Long-term quality-of-life outcomes after radical prostatectomy of watchful waiting: the Scandinavian Prostate Cancer Group-4 randomized trial. *Lancet Oncology*, 2011, vol. 12, no. 9, pp. 891–899. [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(11\)70162-0](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(11)70162-0)
34. Sanda M., Dunn R., Michalski J., et al. Quality of life and satisfaction with outcome among prostate-cancer survivors. *New England Journal of Medicine*, 2008, vol. 358, pp. 1250–1261. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa074311>
35. Donovan J., Hamdy F., Lane M., Mason M., Metcalfe Ch., Walsh E. [et al.]. Patient-reported outcomes after monitoring, surgery, or radiotherapy for prostate cancer. *New England Journal of Medicine*, 2016, vol. 375, no. 15, pp. 1425–1437. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1606221>
36. Morgan M., Press R., Cutrell P., Zhang Ch., Chen Zh., Rahnema S. [et al.]. Brachytherapy for localized prostate cancer in the modern era: a comparison of patient-reported quality of life outcomes among different techniques. *Journal of Contemporary Brachytherapy*, 2018, vol. 10, no. 6, pp. 495–502. <https://doi.org/10.5114/jcb.2018.81024>
37. Leeuwen M., Husson O., Alberti P., Arraras J. I., Chinot O. L., Costantini A. [et al.]. Understanding the quality of life (QOL) issues in survivors of cancer: towards the development of an EORTC QOL cancer survivorship questionnaire. *Health and Quality of life outcomes*, 2018, vol. 16, no. 114. <https://doi.org/10.1186/s12955-018-0920-0>

38. Aaronson N., Ahmedzai S., Bergmann B., Bullinger M., Cull A., Duez N. J. [et al.]. The European Organization for Research and Treatment of Cancer QLQ-C30: a quality-of-life instrument for use in international clinical trials in oncology. *Journal of the National Cancer Institute*, 1993, vol. 85, no. 5, pp. 365–376. <https://doi.org/10.1093/jnci/85.5.365>
39. Pearce N. J., Sanson-Fisher R., Campbell H. Measuring quality of life in cancer survivors: a methodological review of existing scales. *Psycho-Oncology*, 2007, vol. 17, no. 7, pp. 629–640. <https://doi.org/10.1002/pon.1281>
40. Baker F., Curbow B., Wingard J. R. Development of the satisfaction with life domains scale for cancer. *Journal of Psychosocial Oncology*, 2008, vol. 10, no. 3, pp. 75–90. https://doi.org/10.1300/j077v10n03_05
41. Avis N. E., Ip E., Foley K. L. Evaluation of the Quality of Life in Adult Cancer Survivors (QLACS) scale for long-term cancer survivors in a sample of breast cancer survivors. *Health and Quality of Life Outcomes*, 2006, vol. 4, art. 92. <https://doi.org/10.1186/1477-7525-4-92>
42. Litwin M., Hays R., Fink A., Ganz P. A., Leake B., Brook R. H. The UCLA Prostate Cancer Index: development, reliability, and validity of a health-related quality of life measure. *Medical Care*, 1998, vol. 36, no. 7, pp. 1002–1012. <https://doi.org/10.1097/00005650-199807000-00007>
43. Chipman J., Sanda M., Dune R., Wei J. T., Litwin M. S., Crociani C. M., Regan M. M., Chang P. Measuring and predicting prostate cancer related quality of life changes using the Expanded Prostate Cancer Index Composite for Clinical Practice (EPIC-CP). *Journal of Urology*, 2014, vol. 191, no. 3, pp. 638–645. <https://doi.org/10.1016/j.juro.2013.09.040>
44. Rakul S. A., Petrov S. B., Ivanova M. D., Petrova N. N. Testing of the “Universal Questionnaire for the Quality of Life of Patients with Prostate Cancer”. *Onkourologiya [Oncourology]*, 2009, vol. 5, no. 2, pp. 64–73 (in Russian).
45. Coughlin G. D., Yaxley J. W., Chambers S. K., Occhipinti S., Samarasinghe H., Zajdlewicz L. Robot-assisted laparoscopic prostatectomy versus open radical retropubic prostatectomy: 24-month outcomes from a randomized controlled study. *Lancet Oncology*, 2018, vol. 19, no. 8, pp. 1051–1060. [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(18\)30357-7](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(18)30357-7)
46. Goldytskii S. O., Demeshko P. D., Krasnyi S. A., Suslova V. A. High-dose brachytherapy for prostate cancer. *Zdravookhraneniye = Healthcare*, 2019, no. 3, pp. 40–45 (in Russian).

Информация об авторах

Голдыцкий Сергей Олегович – ст. преподаватель. Витебский государственный медицинский университет (пр. Фрунзе, 27, 21009, г. Витебск, Республика Беларусь). E-mail: gsomd2011@gmail.com. <https://orcid.org/0000-0002-3066-3185>.

Демешко Павел Дмитриевич – д-р мед. наук, заведующий отделом. Республиканский научно-практический центр онкологии и медицинской радиологии им. Н. Н. Александрова (223040, агр. Лесной, Минский р-н, Республика Беларусь). E-mail: pdemeshko@icloud.com. <https://orcid.org/0000-0002-1324-3656>.

Красный Сергей Анатольевич – член-корреспондент, д-р мед. наук, профессор, заместитель директора. Республиканский научно-практический центр онкологии и медицинской радиологии им. Н. Н. Александрова (223040, агр. Лесной, Минский р-н, Республика Беларусь). E-mail: sergeykrasny@tut.by. <http://orcid.org/0000-0332-445-664>.

Information about the authors

Sergei O. Goldytski – Senior Lecturer. Vitebsk State Medical University (27, Frunze Ave., 210019, Republic of Belarus). E-mail: gsomd2011@gmail.com. <https://orcid.org/0000-0002-3066-3185>.

Pavel D. Demeshko – D. Sc. (Med.), Head of the Department. N. N. Alexandrov National Cancer Centre of Belarus (223040, Lesnoy, Minsk region, Republic of Belarus). E-mail: pdemeshko@icloud.com. <https://orcid.org/0000-0002-1324-3656>.

Sergey A. Krasny – Corresponding Member, D. Sc. (Med.), Professor, Deputy Director. N. N. Alexandrov National Cancer Centre of Belarus (223040, Lesnoy, Minsk region, Republic of Belarus). E-mail: sergeykrasny@tut.by. <http://orcid.org/0000-0332-445-664>.

ISSN 1814-6023 (Print)

ISSN 2524-2350 (Online)

УДК 616.718.5-001.514-08

<https://doi.org/10.29235/1814-6023-2020-17-3-287-300>

Поступила в редакцию 03.02.2020

Received 03.02.2020

А. В. Селицкий, О. П. Кезля

Белорусская медицинская академия последипломного образования, Минск, Республика Беларусь

АЛГОРИТМ ЛЕЧЕНИЯ СЛОЖНЫХ СЕГМЕНТАРНЫХ И МНОГООСКОЛЬЧАТЫХ ДИАФИЗАРНЫХ ПЕРЕЛОМОВ БОЛЬШЕБЕРЦОВОЙ КОСТИ

Аннотация. В статье изучен клинический опыт хирургического лечения 239 пациентов со сложными сегментарными (Segmental type C2) и многооскольчатыми (Irregular type C3 according to the AO classification) переломами диафиза большеберцовой кости. У 215 (89,9 %) пациентов применялся внеочаговый остеосинтез аппаратом Илизарова, у 24 (10,1 %) – блокированный интрамедуллярный остеосинтез. Определен алгоритм пред- и послеоперационного ведения, хирургического лечения в зависимости от степени повреждения костной ткани, размера и характера ран при открытых переломах, степени повреждения мягких тканей при закрытых переломах.

Ключевые слова: сложные сегментарные переломы большеберцовой кости, алгоритм лечения, аппарат Илизарова, блокированный интрамедуллярный остеосинтез

Для цитирования: Селицкий, А. В. Алгоритм лечения сложных сегментарных и многооскольчатых диафизарных переломов большеберцовой кости / А. В. Селицкий, О. П. Кезля // Вест. Нац. акад. наук Беларусі. Сер. мед. навук. – 2020. – Т. 17, № 3. – С. 287–300. <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2020-17-3-287-300>

Anton V. Sialitski, Oleg P. Kezlya

Belarusian Medical Academy of Postgraduate Education, Minsk, Republic of Belarus

ALGORITHM FOR TREATMENT OF COMPLEX SEGMENTAL AND COMPLEX IRREGULAR DIAPHYSIAL FRACTURES OF TIBIA

Abstract. In the article, clinical experience of surgical treatment of 239 patients with complex segmental (segmental type C2) and complex irregular (irregular type C3 according to the AO classification) diaphysial fractures of tibia is studied. 215 (89.9 %) patients had Ilizarov's external fixator and 24 (10.1 %) patients had blocked intramedullary nailing. The article determined the algorithm of preoperative and postoperative management, surgical treatment depending on the nature of bone tissue damage, the size and nature of wounds in open fractures, and the degree of damage to soft tissues in closed fractures.

Keywords: complex segmental fractures of tibia, treatment algorithm, Ilizarov's external fixator, intramedullary nailing

For citation: Sialitski A. V., Kezlya O. P. Algorithm for treatment of complex segmental and complex irregular diaphysial fractures of tibia. *Vesti Natsyonal'nai akademii navuk Belarusi. Seriya meditsinskikh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2020, vol. 17, no. 3, pp. 287–300 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2020-17-3-287-300>

Введение. Диафизарные переломы костей голени, по данным многих авторов, составляют 15–41 % от всех переломов и 30,3–61 % от переломов длинных трубчатых костей [1, 2]. При этом на открытые переломы голени приходится 54,7–78 % случаев от всех открытых повреждений длинных трубчатых костей [3–5]. Большинство пациентов этой группы – молодые люди трудоспособного возраста [6, 7]. Лечение рассматриваемой патологии осложняется сохраняющейся на протяжении многих лет относительно большой долей (до 26,8 %) случаев замедленной консолидации и образования ложных суставов [8–10].

Удельный вес сегментарных и многооскольчатых переломов диафиза большеберцовой кости составляет от 1,2 до 18,6 % от общего числа переломов костей голени [11, 12], но они имеют весьма тяжелые последствия, поскольку в 42,7 % случаев носят сочетанный и множественный характер [2, 11–13]. Проблемы лечения закрытых и открытых сегментарных и многооскольчатых диафизарных переломов большеберцовой кости в настоящее время окончательно не решены. По мнению G. J. Della Rocca с соавт. [14], лечение требует индивидуального подхода.

Анализ литературы показал, что в последние годы отмечается прогресс в подходах к лечению данной патологии. Несмотря на это, высокоэнергетическая травма голени остается одной из важных проблем из-за сосудисто-нервных поражений и обширных повреждений мягких тканей, которые затрудняют лечение и приводят к осложнениям [9, 15–17]. Большое количество ошибок в процессе лечения и наличие осложнений обусловлено неправильной интерпретацией клинической тяжести перелома и рентгенологической картины. При применении компрессионно-дистракционного остеосинтеза (КДО) и блокированного интрамедуллярного остеосинтеза (БИОС) используются стандартные подходы, не учитывающие особенности повреждения костной ткани и мягкотканых структур голени. Неправильный выбор предоперационной тактики ведения пациентов, применение стандартных схем внеочагового остеосинтеза без учета характера и особенностей перелома, отсутствие четких показаний и противопоказаний к КДО и БИОС, неадекватное ведение пациента в послеоперационном периоде приводят к замедленной консолидации и образованию ложных суставов, септическим осложнениям и посттравматическому остеомиелиту, ограничению трудоспособности и социальной адаптации пациентов.

В литературе остается спорным вопрос о выборе наиболее оптимального метода хирургического лечения пациентов с открытыми и закрытыми оскольчатыми и фрагментарными переломами костей голени, что требует проведения дальнейших исследований [14, 18].

Цель исследования – разработать алгоритм лечения пациентов со сложными сегментарными и многооскольчатыми диафизарными переломами большеберцовой кости для улучшения результатов лечения.

Материалы и методы исследования. Изучены результаты лечения 239 пациентов (198 мужчин и 41 женщины) со сложными сегментарными и многооскольчатыми переломами диафиза большеберцовой кости, прооперированных на базе Минской областной клинической больницы (МОКБ) в период с 1988 по 2016 г. Всего у пациентов диагностировано 243 сложных сегментарных и многооскольчатых перелома диафиза большеберцовой кости. Удельный вес таких переломов за последние 10 лет на фоне общего числа переломов костей голени в МОКБ составил 3,0 (1,3–3,4) %, диафизарных переломов голени – 8,2 (3,1–8,7) %.

Для оценки тяжести переломов длинных костей конечностей предложены различные классификации. От точности определения степени тяжести повреждения зависит адекватность лечения [19, 20]. В нашем исследовании использовалась классификация открытых и закрытых переломов АО/ASIF [19], согласно которой указанные переломы – это сложные сегментарные переломы диафиза большеберцовой кости (42C2) и сложные неправильные многооскольчатые переломы диафиза большеберцовой кости (42C3). Открытые переломы отмечались у 158 (66,1 %) пациентов, закрытые – у 81 (33,9 %).

Однако практическое применение нами данной классификации осложнялось необходимостью оценки большого количества параметров ввиду чрезмерной детализации степени повреждения мягких тканей. При этом нас прежде всего интересовали такие моменты, как наличие условий и возможность проведения погружного или внеочагового остеосинтеза, а следовательно, прогноз риска развития септических осложнений. В связи с этим с целью систематизации подхода к предоперационному ведению, объему обследований, выбору оптимального метода хирургического вмешательства, послеоперационному лечению пациентов с данным высокоэнергетическим повреждением нами была предложена рабочая классификация сегментарных и многооскольчатых диафизарных переломов большеберцовой кости, базирующаяся на ретроспективном анализе лечения таких пациентов в травматологических отделениях МОКБ и литературных данных. В основе этой классификации – оценка степени повреждения мягких тканей, степени риска септических осложнений и определение необходимости вмешательств по закрытию раневых дефектов кожных покровов (табл. 1).

Повреждения мягких тканей типа 1 (компенсированные) не требуют дополнительных вмешательств на мягких тканях как при открытых повреждениях (после первичной хирургической обработки (ПХО) – заживление ран первичным натяжением), так и при закрытых. Повреждения мягких тканей отсутствуют или они незначительные, купируются консервативно. Септические

осложнения в области послеоперационных ран и при закрытых повреждениях мягких тканей отсутствуют. Риск септических осложнений со стороны костной ткани минимальный (табл. 1). Первый тип, согласно классификации АО/ASIF [19], соответствует IO1, IO2 типам открытых переломов и IC1, IC2 типам закрытых переломов.

Таблица 1. Рабочая классификация сегментарных и многооскольчатых диафизарных переломов большеберцовой кости

Table 1. Working classification of segmental and complex irregular diaphyseal fractures of tibia

Тип повреждения мягких тканей	Септические осложнения со стороны мягких тканей и/или кости	Дополнительные хирургические вмешательства на мягких тканях и /или кости	Риск септических осложнений со стороны костной ткани
1. Компенсированное	Нет	Не требуются	Минимальный
2. Субкомпенсированное	Возможны или незначительные	Требуются только на мягких тканях	Средний
3. Декомпенсированное	Значительные	Множественные, в том числе пластические, на мягких тканях и/или кости	Высокий

При повреждениях мягких тканей типа 2 (субкомпенсированных) могут потребоваться однократные дополнительные вмешательства по ликвидации дефектов кожных покровов при открытых повреждениях (после ПХО – заживление ран с незначительным краевым некрозом без обнажения костной ткани), направленные на лечение острых ран, раневых дефектов и хронических ран при открытых травмах. При закрытых травмах повреждения мягких тканей незначительные, без обнажения костной ткани, купируются консервативно или хирургическим методом одномоментно. Септические осложнения характерны только для области послеоперационных ран и закрытых повреждений мягких тканей, незначительные, купируются консервативно или после одномоментного закрытия раневых дефектов. Имеется риск септических осложнений со стороны костной ткани средний (табл. 1). Этот тип, согласно классификации АО/ASIF [19], соответствует IO3 типу открытых переломов и IC3, IC4 типам закрытых переломов.

Повреждения мягких тканей типа 3 (декомпенсированные) требуют многократных повторных дополнительных вмешательств, в том числе и микрохирургических (после ПХО – заживление ран вторичным натяжением или со значительным краевым некрозом, с обнажением костной ткани), направленных на лечение острых и хронических ран с обширными раневыми дефектами как при открытых повреждениях, так и при закрытых, как на мягких тканях, так и, возможно, на костях. Септические осложнения имеются в области послеоперационных ран и на всем их протяжении. При закрытых травмах септические осложнения присутствуют в области некроза мягких тканей и на его протяжении. Они значительные, не купируются консервативно и требуют длительного многоэтапного хирургического лечения. Риск септических осложнений со стороны костной ткани высокий (табл. 1). Тип 3, согласно классификации АО/ASIF [19], соответствует IO4, IO5 типам открытых переломов и IC4, IC5 типам закрытых переломов.

Следует отметить, что окончательно тип повреждения определялся нами непосредственно перед хирургическим лечением, когда имелась четкая картина степени повреждения мягкотканого компонента после всех проведенных в предоперационном периоде лечебных мероприятий.

Определение качества репозиции согласно критериям оценки рентгенологических результатов по шкале Johner-Wruhs's [21] и измерение остаточного ротационного смещения промежуточного фрагмента по формуле Ф. А. Мацукатов и И. И. Мартель [22] выполнены у всех пациентов. В ходе исследования нами были разработаны компьютерная программа Fractovizog и метод оценки ротационных смещений при переломах костей с использованием данной программы (рис. 1).

Суть разработанной программы и метода оценки ротационного смещения заключается в том, что для работы пользователю необходимо открыть в любом удобном для него DICOM-браузере (eFilm Workstation, Amira, Slicer и др.) изображения двух срезов. На одном из них сечение проходит через сегмент без ротационного смещения (проксимальная фиксированная часть кости), а на другом – с ротационным смещением (т. е. срез проходит через отломок). После этого программа

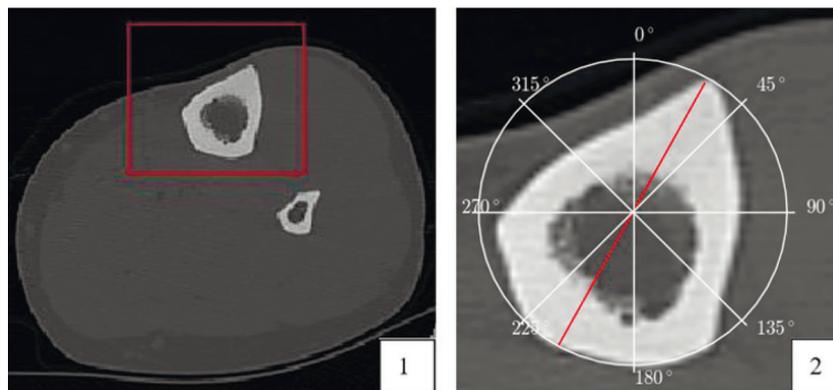


Рис. 1. Выделение области для анализа с помощью программы Fractovizor (1 – интерактивная часть работы; 2 – вывод программы для одного среза)

Fig. 1. Selection of the analysis area with the program Fractovizor (1 – interactive part of work, 2 – output of the program to one slice)

автоматически делает снимки экрана (скриншоты). Затем пользователь отмечает на скриншотах области поврежденной кости. Между этими областями рассчитывают ротационное смещение путем определения угла между наибольшими осями. Алгоритм сводится к определению угла между наибольшими поперечными сечениями кости на разных ее срезах. Поперечное сечение с коэффициентами 0,8 и 0,2 между фактической длиной и медианой соответственно определяли как наибольшее. Таким образом, сечения, определенные человеком и разработанным алгоритмом, должны совпадать. Данная компьютерная программа оценки остаточного ротационного смещения при переломах костей разработана нами на основании рентгено-компьютерной томографии голени 7 пациентов. После краткой инструкции врач любой специальности может применить эту программу для определения остаточного ротационного смещения отломков.

Все пациенты со сложными сегментарными и многооскольчатыми переломами диафиза большеберцовой кости были разделены на две группы: группу сравнения (традиционная тактика лечения) и исследуемую группу (применена разработанная тактика лечения). В группу сравнения были включены 85 (35,6 %) пациентов, в исследуемую группу – 154 (64,4 %).

Распределение пациентов в зависимости от типа повреждения костной и мягких тканей представлено в табл. 2.

Из приведенных данных видно, что у 184 (75,7 %) пациентов преобладали сегментарные переломы диафиза большеберцовой кости АО 42C2. Среди открытых переломов чаще всего встречались повреждения типа IQ3–IQ4 (94 (38,7 %) пациента), а среди закрытых – повреждения типа IC2–IC3 (63 (25,9 %) пациента).

Проведенный анализ не выявил статистически значимых различий между группами ($p \geq 0,05$). Пациенты групп исследования были сопоставимы по возрасту, полу, характеру и механизму травмы, типам переломов (табл. 3).

В группе сравнения (85 (35,6 %) пациентов) открытые переломы были у 61 (71,8 %) пациента, закрытые – у 24 (28,2 %). Сочетанная травма диагностирована у 33 (38,8 %) пациентов, политравма – у 23 (27,1 %). Лечение в хирургических или травматологических отделениях центральных районных больниц (ЦРБ) начинали 70 (82,4 %) пациентов, в МОКБ – 15 (17,6 %). Традиционная тактика лечения пострадавших данной группы в ЦРБ заключалась в использовании гипсовых повязок, скелетного вытяжения или их сочетания, без учета высокоэнергетического характера травмы.

В условиях ЦРБ фиксация гипсовой повязкой применена у 28 (32,9 %) пациентов, скелетное вытяжение или его сочетание с гипсовой иммобилизацией – у 29 (34,1 %). Хирургическое лечение осуществлено у 13 (15,3 %) пациентов: остеосинтез спицевым аппаратом Илизарова – у 5 (5,9 %), пластинами – у 5 (5,9 %), спицами, винтами, гвоздем ЦИТО – у 3 (3,5 %). В связи с возникшими осложнениями все пациенты были переведены в МОКБ, а все погружные конструкции после перевода были удалены.

Таблица 2. Распределение пациентов с открытыми и закрытыми переломами в группах исследования согласно классификации АО/ASIF и рабочей классификации, абс. (%)

Table 2. Group distribution of the study patients with open and closed fractures according to the AO/ASIF classification and the working classification, abs. (%)

Тип перелома	Группа сравнения (n = 85)	Исследуемая группа (n = 158)	Статистическая значимость различий
IQ1	4 (4,7)	17 (10,8)	$F = 0,1, p = 0,151$
IQ2	13 (15,3)	26 (16,5)	$\chi^2 < 0,1, p = 0,959$
IQ3	18 (21,2)	30 (19,0)	$\chi^2 = 0,1, p = 0,810$
IQ4	24 (28,2)	22 (13,9)	$\chi^2 = 6,5, p = 0,011$
IQ5	2 (2,4)	4 (2,5)	$F < 0,1, p = 1,001$
Всего открытых	61 (71,8)	99 (62,7)	$\chi^2 = 2,0, p = 0,153$
IC1	1 (1,2)	7 (4,4)	$F = 0,1, p = 0,267$
IC2	3 (3,5)	28 (17,7)	$F = 0,2, p = 0,001$
IC3	13 (15,3)	19 (12,1)	$\chi^2 = 0,3, p = 0,603$
IC4	6 (7,1)	4 (2,5)	$F = 0,1, p = 0,102$
IC5	1 (1,2)	1 (0,6)	$F < 0,1, p = 1,001$
Всего закрытых	24 (28,2)	59 (37,3)	$\chi^2 = 2,0, p = 0,153$
АО 42C2	67 (78,8)	117 (74,1)	$\chi^2 = 0,68, p = 0,409$
АО 42C3	18 (21,2)	41 (25,9)	
Рабочая классификация: тип 1	11 (12,9)	58 (36,7)	$\chi^2 = 14,2, p < 0,001$
Рабочая классификация: тип 2	35 (41,2)	64 (40,5)	$\chi^2 < 0,1, p = 0,972$
Рабочая классификация: тип 3	39 (45,9)	36 (22,8)	$\chi^2 = 12,8, p < 0,001$

Таблица 3. Характеристика пациентов сравниваемых групп, абс. (%)

Table 3. Characteristics of the compared patient groups, abs. (%)

Параметр	Группа сравнения (n = 85)	Исследуемая группа (n = 154)	Статистическая значимость различий
Возраст, лет (Me (25 %–75 %))	39 (33–48)	43 (34–50)	$U = 5694,5, p = 0,097$
Пол	М	69 (81,2)	$\chi^2 = 0,1, p = 0,718$
	Ж	16 (18,8)	
Характер травмы	Дорожно-транспортная	64 (75,3)	$\chi^2 = 0,4, p = 0,520$
	Бытовая	21 (24,7)	
Механизм травмы	Прямой	73 (85,9)	$\chi^2 = 0,6, p = 0,420$
	Непрямой	12 (14,1)	
Тип перелома АО	АО 42C2	67 (78,8)	$\chi^2 = 0,9, p = 0,350$
	АО 42C3	18 (21,2)	
Тип перелома	Открытый	61 (71,8)	$\chi^2 = 1,9, p = 0,170$
	Закрытый	24 (28,2)	

Из 15 пациентов, первично поступивших в МОКБ, у 7 выполнен КДО спицевым аппаратом Илизарова в экстренном порядке, с детальной открытой визуализацией и анатомичным вправлением промежуточного фрагмента. У 8 пациентов применена гипсовая иммобилизация до хирургического лечения.

После стабилизации состояния у 78 пациентов группы сравнения был применен внеочаговый КДО спицевым аппаратом Илизарова. При этом репозиция отломков на операционном столе выполнена 19 пациентам. У 59 (69,4 %) пациентов одномоментное вправление не представлялось возможным, поскольку с момента получения ими травмы прошло достаточно много времени. Им потребовалась дополнительная коррекция сохранившихся смещений (по длине, ширине и под углом), для чего выполнено 112 дополнительных хирургических вмешательств. Остеотомия малоберцовой кости понадобилась 34 (40 %) пациентам. Во всех случаях вправление пере-

ломов проводилось без учета ротационного смещения промежуточного фрагмента. Ротационное смещение промежуточного фрагмента более 5° сохранялось у всех пациентов данной группы.

Учитывая не удовлетворяющие нас результаты лечения пациентов со сложными сегментарными и многооскольчатыми переломами диафиза большеберцовой кости, с 1997 г. нами стала проводиться активная работа с районными больницами по оказанию специализированной помощи таким пациентам. Так, лечение 154 (64,4 %) пациентов исследуемой группы проводилось с учетом высокоэнергетического характера травмы. Открытые переломы были у 97 (62,9 %) пациентов, закрытые – у 57 (37,1 %). Из них 98 (63,6 %) пациентов начинали лечение в районных хирургических или травматологических отделениях, 56 (36,4 %) – в МОКБ. Среди них было 55 (35,7 %) пациентов с сочетанной травмой, 45 (29,2 %) – с политравмой.

При определении тактики ведения и выбора метода хирургического лечения руководствовались рабочей классификацией (см. табл. 1), на основании которой нами был предложен и применен алгоритм лечения пациентов со сложными сегментарными и многооскольчатыми переломами диафиза большеберцовой кости (рис. 2).

Обследование пациентов исследуемой группы проводили согласно алгоритму, представленному на рис. 3, руководствуясь рабочей классификацией (см. табл. 1).

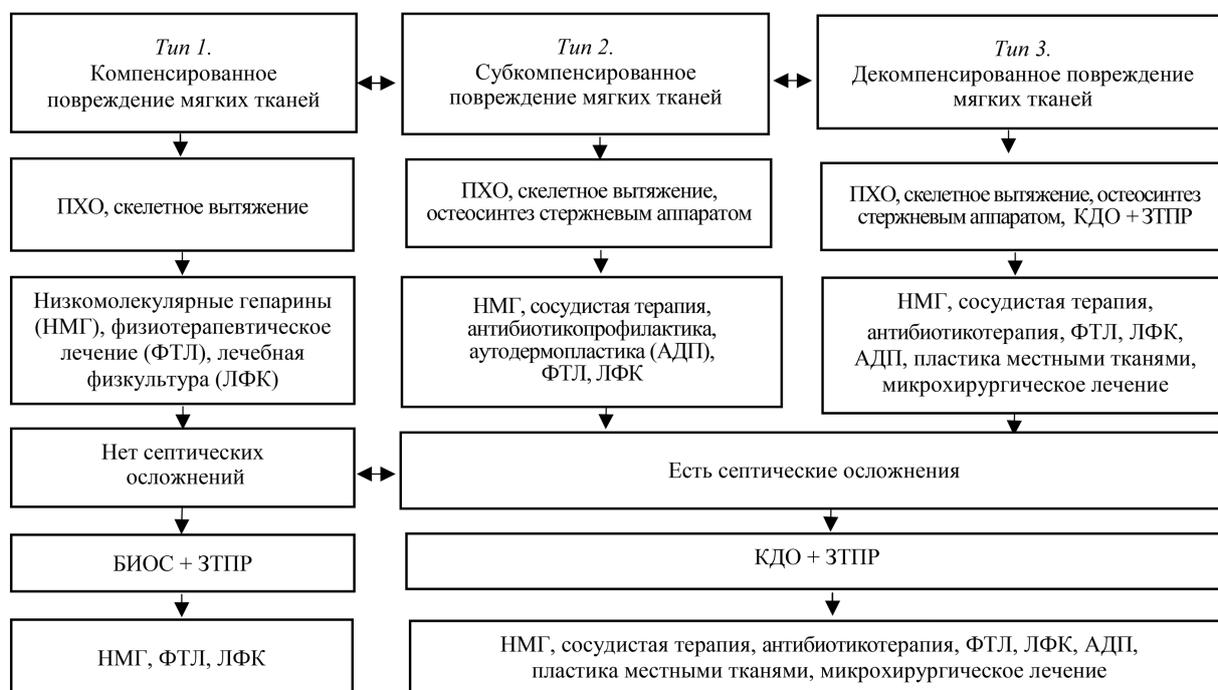


Рис. 2. Алгоритм лечения пациентов со сложными сегментарными и многооскольчатыми переломами диафиза большеберцовой кости

Fig. 2. Algorithm for treatment of patients with complex segmental and complex irregular diaphysial fractures of tibia



Рис. 3. Алгоритм обследования пациентов со сложными сегментарными и многооскольчатыми переломами диафиза большеберцовой кости

Fig. 3. Algorithm for examination of patients with complex segmental and complex irregular diaphysial fractures of tibia

Екстренну допомогу таким пацієнтам оказували согласно принятому алгоритму, представленному на рис. 2. Лечение в ЦРБ было направлено прежде всего на стабилизацию состояния пациентов, после чего их переводили для дальнейшего лечения в специализированные травматологические отделения МОКБ.

При открытых переломах с повреждениями типа 1 (IO1, IO2 – классификация AO/ASIF) (см. табл. 2) у 43 (27,9 %) пациентов ПХО закончилась ушиванием раны. Заживление таких ран первичным натяжением отмечалось у всех пациентов.

При открытых переломах типа 2 (28 (18,2 %) пациентов) (IO3 – классификация AO/ASIF) (см. табл. 2) ПХО ран заканчивали с помощью активного дренирования с использованием полихлорвиниловых трубок, которые удаляли по показаниям на 2–7-е сутки. Заживление первичным натяжением отмечалось у 17 (56,7 %) пациентов, заживление вторичным натяжением – у 11 (39,3 %). После проведения ПХО все пациенты с данными типами повреждений (71 (46,1 %) человек) продолжили лечение методом скелетного вытяжения (этап предоперационной подготовки).

При закрытых переломах у 47 (30,5 %) пациентов с повреждениями типа 1 (15 человек) и типа 2 (32 человека) также использовали (как этап предоперационной подготовки) скелетное вытяжение с целью предотвратить развитие нейротрофических нарушений или, при их наличии, создать оптимальные условия для их скорейшего купирования.

Третий тип повреждения мягких тканей диагностирован у 36 (23,4 %) пациентов: у 26 (16,9 %) – с открытыми переломами, у 10 (6,5 %) – с закрытыми переломами (IO4-5, IC4-5 – AO/ASIF). Скелетное вытяжение как этап предоперационной подготовки применено у 19 (12,3 %) пациентов. В связи с тяжелым общим состоянием 7 (4,5 %) пациентов с целью стабилизации перелома произведен остеосинтез стержневым аппаратом, без анатомичного вправления. У 10 (6,5 %) пациентов в экстренном порядке применен метод комбинированного чрескостного остеосинтеза сложных сегментарных и многооскольчатых переломов диафиза большеберцовой кости аппаратом Илизарова с устранением всех видов смещения.

У всех 130 (84,4 %) пациентов исследуемой группы был применен разработанный нами метод комбинированного чрескостного остеосинтеза сложных сегментарных и многооскольчатых переломов диафиза большеберцовой кости аппаратом Илизарова с проведением закрытой трехплоскостной репозиции (ЗТПР) промежуточного фрагмента [23–25]. При открытых переломах данный метод применен у 90 (69,2 %) пациентов, при закрытых – у 40 (30,8 %): в экстренном порядке – у 10 (7,7 %) пациентов, в плановом – у 120 (92,3 %). С типом 1 повреждений мягких тканей было 47 (36,2 %) пациентов, с типом 2 – 48 (36,9 %), с типом 3 – 35 (26,9 %) пациентов.

У 103 (79,2 %) пациентов, которым хирургическое лечение методом комбинированного чрескостного остеосинтеза сложных сегментарных и многооскольчатых переломов диафиза большеберцовой кости аппаратом Илизарова проведено в сроки до 3 недель, вправление переломов произведено одномоментно закрыто, на операционном столе. При этом ЗТПР промежуточного фрагмента выполняли без дополнительного его обнажения, предельно малотравматично. Для достижения трехплоскостной репозиции использовали стержни, стержни и спицы с упорными площадками, фигурными изгибами, устройство для фиксации чрескостного стержня собственной конструкции для устранения всех видов смещений с последующим ведением аппарата Илизарова в режиме компрессии и стабилизации [23, 24].

Восстановление анатомии сегмента способствовало купированию трофических расстройств (37 (28,5 %) пациентов) в течение 3–7 сут после оперативного лечения.

Вправление несвежих и застарелых переломов (более 3 недель) у 27 (20,8 %) пациентов выполняли с использованием distraction и компрессии, сохраняя при этом достигнутое на момент операции сращение и поэтапно устраняя все виды смещения, в том числе ротационное. Вправление смещений по длине, ширине и под углом производили с помощью устройства для фиксации чрескостного стержня собственной конструкции, позволяющего устранить все виды смещений, и других элементов аппарата Илизарова [24, 25].

После заживления ран первичным натяжением, купирования нейротрофических нарушений произведен БИОС большеберцовой кости у 24 (15,6 %) пациентов исследуемой группы: у 7 (29,2 %) – с открытыми переломами, у 17 (70,8 %) – с закрытыми переломами. С типом 1 повреждений мягких

тканей было 11 (45,8 %) пациентов, с типом 2 – 12 (50 %), с типом 3 – 1 (4,2 %) пациент. У всех пациентов использовали разработанное нами устройство для distraction и репозиции сложных сегментарных и многооскольчатых диафизарных переломов костей [26, 27].

У одного пациента с типом 3 повреждений после некрэктомии и локализации раневого процесса дефект мягких тканей по задней поверхности голени был закрыт с применением пластики мягких тканей встречными лоскутами уже на «стабильном» сегменте после проведения блокированного интрамедуллярного остеосинтеза (на 21-е сутки).

АБ-профилактику и АБ-терапию проводили с учетом клинической картины и в зависимости от чувствительности флоры.

При наличии показаний в пред- и послеоперационном периоде применяли низкомолекулярные гепарины, сосудорасширяющие препараты и препараты, улучшающие микроциркуляцию, у 81 (52,6 %) пациента: у 46 (29,9 %) – с нейротрофическими нарушениями, у 35 (22,7 %) – с клиникой компартмент-синдрома.

С целью обезболивания, а также для улучшения реологических свойств крови, снижения местного отека, улучшения регенерации тканей и стимуляции остеогенеза у 129 (83,8 %) пациентов применена магнитотерапия, у 69 (44,8 %) – лазеротерапия, у 2 – баротерапия.

После операции всем пациентам назначалась ЛФК. Дозированная нагрузка на больную конечность разрешалась со 2–3-х суток после операции. Разработкой движений, профилактикой контрактур в смежных суставах занимались с первых дней после операции, активно используя ЛФК и физиотерапевтическое лечение.

Результаты и их обсуждение. Попытка консервативного лечения пациентов группы сравнения, стандартный подход к предоперационному лечению (гипсовая иммобилизация, скелетное вытяжение), хирургическое лечение не привели к достижению положительного результата при лечении пациентов в ЦРБ. В связи с этим все они были переведены в специализированные травматологические отделения МОКБ. В сроки до 3 недель было переведено 25 (35,7 %) пациентов, в сроки более 3 недель – 45 (64,3 %), а через 12 мес. – 19 (27,1 %) пациентов.

Среди осложнений, возникших в группе сравнения за период лечения в ЦРБ, преобладали не только обусловленные высокоэнергетическим характером травмы, но и возникшие в результате консервативного или хирургического лечения: не устраненное смещение – у 68 (97,6 %) пациентов, септические осложнения – у 50 (71,4 %) пациентов. Среди последних преобладали инфекция мягких тканей (нагноение послеоперационных ран, хроническая рана) (45 (64,3 %) пациентов), некроз мягких тканей (27 (38,6 %)), посттравматический остеомиелит (5 (7,1 %)). Из 25 пациентов, переведенных до 3 недель, у 11 (12,9 %) были трофические нарушения, характерные для высокоэнергетической травмы на ранних этапах, что было обусловлено прежде всего отсутствием целенаправленного лечения этих нарушений. Все конструкции у 13 пациентов, пролеченных в ЦРБ после перевода, были удалены в связи с возникшими осложнениями.

С момента перевода в МОКБ всем пациентам выполнен КДО спицевым аппаратом Илизарова. Однако при выполнении данного вмешательства основной акцент был сделан на стабилизацию поврежденного сегмента, без учета состояния промежуточного фрагмента. У 59 (69,4 %) пациентов это потребовало 112 дополнительных хирургических вмешательств, направленных на устранение смещений по длине, ширине и под углом. Остеотомия малоберцовой кости понадобилась 34 (40 %) пациентам. При этом ротационное смещение более 5° сохранилось у всех пациентов. Детальная открытая визуализация и анатомичное вправление промежуточного фрагмента при КДО и остеосинтез пластинами привели к секвестрации промежуточного фрагмента у 7 пациентов.

В процессе лечения в МОКБ в связи с септическими осложнениями в группе сравнения у 33 (38,8 %) пациентов проведено 37 некрэктоми, у 37 (43,5 %) – 52 секвестрэктомии, у 21 (24,7 %) – 25 остеоперфораций, у 31 (36,5 %) – 54 аутодермопластики (АДП) свободным расплеченным аутооттрансплантатом. В связи с секвестрацией промежуточного фрагмента большеберцовой кости и образованием дефекта костной ткани биллокальный остеосинтез выполнен у 7 (8,2 %) пациентов, костная пластика аутооттрансплантатом из крыла подвздошной кости – у 5 (5,9 %), введение геля гидроксиапатита понадобилось 2 (2,4 %) пациентам (табл. 4).

Таблица 4. Дополнительное хирургическое лечение, применяемое в сравниваемых группах пациентов, абс. (%)

Table 4. Additional surgical treatment used in the compared patient groups, abs. (%)

Дополнительное хирургическое лечение	Группа сравнения (n = 85)	Исследуемая группа (n = 154)	Статистическая значимость различий
Некрэктомия	33 (38,8)	27 (17,5)	$\chi^2 = 13,2, p < 0,001$
Секвестрэктомия	37 (43,8)	16 (10,4)	$\chi^2 = 34,9, p < 0,001$
Остеоперфорация	21 (24,7)	8 (5,2)	$\chi^2 = 19,6, p < 0,001$
АДП	31 (36,5)	20 (12,9)	$\chi^2 = 18,0, p < 0,001$
Пластика местными тканями	7 (8,2)	8 (5,2)	$\chi^2 = 0,9, p = 0,354$
Костная пластика	5 (5,9)	2 (1,3)	$F = 0,13, p = 0,057$
Билокальный остеосинтез	7 (8,2)	1 (0,7)	$F = 0,2, p = 0,003$
Введение геля гидроксиапатита	2 (2,4)	3 (1,9)	$F < 0,1, p = 0,058$

В группе сравнения у 74 (87,1 %) пациентов выявлены следующие осложнения: контрактуры в смежных суставах (61 (71,8 %) пациент), хронический посттравматический остеомиелит (48 (56,5 %)), постфлебитический синдром (ПФС) (49 (57,6 %)), ложный сустав (4 (4,7 %)), посттравматическая нейропатия (4 (4,7 %)), посттравматическая деформация (3 (3,5 %) пациента).

Из 154 пациентов исследуемой группы в экстренном порядке в МОКБ госпитализировано 56 (36,4 %) пациентов, а 98 (63,6 %) начинали лечение в ЦРБ. Лечение всех пациентов с открытыми и закрытыми повреждениями типа 1 или 2 заключалось в скелетном вытяжении с грузами, позволяющем на этапе предоперационной подготовки устранить смещение отломков по длине и стабилизировать состояние пациента. При тяжелом состоянии пациентов с повреждением мягких тканей типа 3 в экстренном порядке производили остеосинтез стержневым аппаратом. При открытых переломах после тщательной ПХО раны и стабильном состоянии пациента в экстренном порядке применяли метод комбинированного чрескостного остеосинтеза сложных сегментарных и многооскольчатых переломов диафиза большеберцовой кости аппаратом Илизарова с закрытой репозицией промежуточного фрагмента [23–25]. При наличии показаний в пред- и послеоперационном периоде пациентам с нейротрофическими нарушениями и клиническими проявлениями компартмент-синдрома назначали сосудорасширяющие препараты и препараты, улучшающие микроциркуляцию, что позволило перевести 77 (78,6 %) пациентов исследуемой группы в МОКБ в течение 3 недель. Для перевода 20 (20,4 %) пациентам понадобилось более 3 недель, что было обусловлено прежде всего тяжестью их состояния.

Среди осложнений, возникших в предоперационном периоде в исследуемой группе, преобладали обусловленные высокоэнергетическим характером травмы: нейротрофические осложнения (фликтены), которые были купированы консервативно, до хирургического лечения, у 46 (29,9 %) пациентов, а также осложнения в виде компартмент-синдрома, который был купирован до хирургического лечения у 35 (22,7 %) пациентов (у 32 (91,4 %) пациентов – консервативно), лишь 3 (8,6 %) пациентам в первые сутки после получения травмы понадобилась фасциотомия. Инфекция мягких тканей была у 41 (26,6 %) пациента, некроз мягких тканей – у 22 (14,3 %), посттравматический остеомиелит – у 2 (1,3 %) пациентов.

При хирургическом лечении 130 пациентов исследуемой группы был применен метод комбинированного чрескостного остеосинтеза сложных сегментарных и многооскольчатых переломов диафиза большеберцовой кости аппаратом Илизарова с проведением ЗТПР промежуточного фрагмента [23–25]. Объем ПХО определялся степенью повреждения мягких тканей и размерами раны, а не размерами промежуточного фрагмента. ПХО была направлена прежде всего на санацию раны, профилактику септических осложнений и некроза мягких тканей, а не на открытое анатомичное вправление промежуточного фрагмента. Это позволило избежать дополнительной травматизации мягких тканей и сосудов микроциркуляторного русла в области отломков, способствовало стимулированию репаративных процессов. Максимально анатомичное сопоставление отломков достигалось за счет закрытой репозиции. Данная тактика при хирургическом лечении

Предложенный алгоритм лечения пациентов со сложными сегментарными и многооскольчатыми переломами диафиза большеберцовой кости был направлен прежде всего на профилактику и лечение осложнений, обусловленных высокоэнергетическим характером травмы – нейротрофическими нарушениями, компартмент-синдромом. В результате консервативного лечения они были купированы практически у всех пациентов исследуемой группы в предоперационном периоде, лишь 3 (8,6 %) пациентам понадобилась фасциотомия в первые сутки после получения травмы. В связи с этим предоперационный период в МОКБ у пациентов исследуемой группы был больше и составил 8 (5–13) сут, а в группе сравнения – 6 (4–9) сут ($U = 5046,0, p < 0,05$). Однако это позволило существенно сократить послеоперационный период в исследуемой группе – до 14 (9–24) сут при использовании КДО ($z_{1,2} = 5,8, p < 0,001$) и до 12 (9–14) сут ($z_{1,3} = 5,2, p < 0,001$) при применении БИОС (в группе сравнения он составил 33 (17–53) сут ($H = 44,2, p < 0,001$)) (табл. 5).

Оценку интенсивности болевого синдрома в предоперационном периоде и после хирургического лечения проводили при помощи 10-балльной визуальной аналоговой шкалы (ВАШ). С помощью ВАШ пациент оценивал выраженность боли в области травмированной конечности при поступлении, в день операции, на 3-и, 7-е сутки после операции и при выписке. У всех пациентов исследуемой группы после оперативного лечения отмечалось купирование болевого синдрома в течение 2–3 сут, а трофические нарушения исчезали в течение 3–7 сут. У пациентов группы сравнения после оперативного лечения купирование болевого синдрома наблюдалось в течение 5–7 сут, а трофические нарушения сохранялись в течение 10–12 сут. При рентгенологическом исследовании у пациентов исследуемой группы признаки костной мозоли появлялись на 2–3 недели раньше, чем у лиц группы сравнения.

Применение разработанного нами алгоритма при лечении пациентов исследуемой группы, а также метода комбинированного чрескостного остеосинтеза сложных сегментарных и многооскольчатых переломов диафиза большеберцовой кости аппаратом Илизарова с закрытой репозицией промежуточного фрагмента [23–25] позволило уменьшить послеоперационные осложнения до 29,9 % (46 пациентов) по сравнению с группой сравнения – 87,1 % (74 пациента.). Это позволило также сократить сроки фиксации голени в аппарате Илизарова – с 14 (11–18) мес. в группе сравнения до 9,5 (8–12) мес. в исследуемой группе ($U = 2511,0, p < 0,001$). Благодаря дифференцированному подходу к выбору метода малоинвазивного остеосинтеза и комплексному подходу к лечению на каждом из этапов сократились общие сроки лечения: в группе сравнения – с 18 (15–23) мес. ($H = 129,9, p < 0,001$) до 11 (10–13) мес. при использовании КДО ($z_{1,2} = 9,3, p < 0,001$), в исследуемой группе – до 9 (7,5–9,5) мес. ($z_{1,3} = 9,5, z_{2,3} = 3,9, p < 0,001$) при применении БИОС. Это позволило также снизить число пациентов, получивших вторую группу инвалидности, с 56 (65,9 %) в группе сравнения до 43 (27,9 %) в исследуемой группе ($\chi^2 = 32,5, p < 0,001$).

Данная тактика лечения с использованием внеочагового остеосинтеза стержнеспицевыми аппаратами Илизарова и заблокированного интрамедуллярного остеосинтеза позволила получить сращение переломов у 74,7 % пациентов в исследуемой группе в сроки до года (в группе сравнения – 8,2 %), а у 25,3 % пациентов – в сроки больше года (в группе сравнения – 91,8 %).

Выводы

1. Пациенты со сложными сегментарными и многооскольчатыми переломами диафиза большеберцовой кости нуждаются в оказании высококвалифицированной помощи в условиях специализированных травматологических отделений.

2. Перевод таких пациентов в специализированные отделения должен осуществляться как можно раньше, до возникновения осложнений.

3. Внеочаговый остеосинтез и заблокированный интрамедуллярный остеосинтез, как и любой высокотехнологичный способ лечения, требует тщательного планирования операции, рационального проведения предоперационной подготовки, рентгенологического контроля процессов консолидации, своевременного выполнения повторных операций.

4. При определении тактики лечения пациентов со сложными сегментарными и многооскольчатыми переломами диафиза большеберцовой кости необходимо учитывать степень повреждения костной ткани, размеры и характер ран и степень повреждения мягких тканей.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список использованных источников

1. Кувшинкин, А. А. Комбинированный стабильный остеосинтез при лечении больных с диафизарными переломами костей голени : автореф. дис. ... канд. мед. наук : 14.01.15 / А. А. Кувшинкин ; Саратов. гос. мед. ун-т. – Саратов, 2011. – 26 с.
2. Epidemiological analysis of outcomes in 323 open tibial diaphyseal fractures: a nine-year experience / W. Chua [et al.] // Singapore Med. J. – 2012. – Vol. 53, N 6. – P. 385–389.
3. Оценка безопасности и эффективности последовательного проведения чрескостного и закрытого интрамедуллярного остеосинтеза / А. Н. Челноков [и др.] // Лечение повреждений и заболеваний таза. Новые технологии в лечении повреждений и заболеваний опорно-двигательной системы : материалы респ. науч.-практ. конф., Екатеринбург, 17–18 сент. 2003 г. – Екатеринбург, 2003. – С. 269–272.
4. Литвина, Е. А. Современное хирургическое лечение множественных и сочетанных переломов костей конечностей и таза : автореф. дис. ... д-ра мед. наук : 14.01.15 / Е. А. Литвина ; Рос. гос. мед. ун-т. – М., 2010. – 38 с.
5. The poly-traumatized patient with fractures / ed. : Н.-С. Pape, R. Sanders, J. Borrelli. – Berlin : Heidelberg, 2011. – 361 p.
6. Худницкий, С. И. Лечение больных с диафизарными переломами костей голени по методике АО : обзор / С. И. Худницкий // Здравоохранение. – 2000. – № 10. – С. 37–42.
7. Aslan, A. A staged surgical treatment outcome of type 3 open tibial fractures / A. Aslan, E. Uysal, A. Özmeriç // ISRN Orthop. – 2004. – Vol. 2004. – Art. ID 721041. <https://doi.org/10.1155/2014/721041>
8. Анализ неблагоприятных исходов множественных переломов костей конечностей / Э. Г. Грязнухин [и др.] // Заболевания и повреждения опорно-двигательного аппарата у взрослых : тез. V обл. науч.-практ. конф. – СПб., 1999. – С. 15–16.
9. Immediate primary skin closure in type-III A and B open fractures: results after a minimum of five years / S. Rajasekaran [et al.] // J. Bone Joint Surg. Br. vol. – 2009. – Vol. 91-B, N 2. – P. 217–224. <https://doi.org/10.1302/0301-620x.91b2.21228>
10. The role of plating in the operative treatment of severe open tibial fractures : a systematic review / P. V. Giannoudis [et al.] // Int. Orthopaedics. – 2009. – Vol. 33, N 1. – P. 19–26. <https://doi.org/10.1007/s00264-007-0443-5>
11. Сафуан, Ю. Множественные диафизарные переломы длинных костей нижних конечностей и их комплексное лечение : автореф. дис. ... канд. мед. наук : 14.00.22 / Ю. Сафуан ; Науч.-исслед. ин-т травматологии и ортопедии. – Ташкент, 1991. – 17 с.
12. Segmental tibia fractures: a critical retrospective analysis of 49 cases / P. Bonnevalle [et al.] // Rev. Chir. Orthop. Reparatrice Appar. Mot. – 2003. – Vol. 89, N 5. – P. 423–432.
13. Naique, S. B. Management of severe open tibial fractures. The need for combined orthopaedic and plastic surgical treatment in specialist centres / S. B. Naique, M. Pearse, J. Nanchahal // J. Bone Joint Surg Br. vol. – 2006. – Vol. 88-B, N 3. – P. 351–357. <https://doi.org/10.1302/0301-620x.88b3.17120>
14. Della Rocca, G. J. External fixation versus conversion to intramedullary nailing for definitive management of closed fractures of the femoral and tibial shaft / G. J. Della Rocca, B. D. Crist // J. Am. Acad. Orthop. Surg. – 2006. – Vol. 14, N 10. – P. S131–S135. <https://doi.org/10.5435/00124635-200600001-00030>
15. Soft tissue coverage in open fractures of tibia / J. B. Kamath (et al.) // Ind. J. Orthop. – 2012. – Vol. 46, N 4. – P. 462–469. <https://doi.org/10.4103/0019-5413.97265>
16. Тихилов, Р. М. Современное состояние проблемы использования внутреннего остеосинтеза при лечении пострадавших с переломами длинных костей конечностей в условиях городского многопрофильного стационара российского мегаполиса / Р. М. Тихилов, И. Г. Беленький, Д. И. Кутянов // Травматология и ортопедия России. – 2012. – № 4. – С. 17–25.
17. Treatment of complex tibial plateau fractures using Ilizarov technique / I. Lalić [et al.] // Acta Clin. Croat. – 2014. – Vol. 53, N 4. – P. 437–448.
18. Shannon, F. J. Unreamed intramedullary nail versus external fixation in grade III open tibial fractures / F. J. Shannon, H. Mullett, K. O'Rourke // J. Trauma: Injury, Infection, Crit. Care. – 2002. – Vol. 52, N 4. – P. 650–654. <https://doi.org/10.1097/00005373-200204000-00006>
19. Руководство по внутреннему остеосинтезу: методика, рекомендованная группой АО (Швейцария) / М. Е. Мюллер [и др.]. – М. : Ad Marginem, 1996. – 750 с.
20. Ситник, А. А. Лечение открытых переломов нижних конечностей в современных условиях / А. А. Ситник, А. В. Белецкий // Мед. новости. – 2011. – № 7. – С. 27–31.
21. Johner, R. Classification of tibial shaft fractures and correlation with results after rigid internal fixation / R. Johner, O. Wruhs // Clin. Orthop. Relat. Res. – 1983. – N 178. – P. 7–25. <https://doi.org/10.1097/00003086-198309000-00003>
22. Мартель, И. И. Диагностика ротационных смещений при переломах костей голени и сравнительная оценка возможностей кольцевых аппаратов внешней фиксации по их устранению / И. И. Мартель, И. Швед, Ф. А. Мацукатов // Ортопедия, травматология и протезирование. – 2014. – № 4. – С. 85–92.
23. Способ остеосинтеза при диафизарных переломах голени : пат. 20205 С2 Респ. Беларусь : МПК А 61В 17/56 (2006.01) / А. В. Селицкий, О. П. Кезля, И. И. Харкович, Э. А. Повелица ; дата публ.: 28.02.2015.
24. Метод комбинированного чрескостного остеосинтеза сложных сегментарных и многооскольчатых переломов диафиза большеберцовой кости : инструкция по применению № 083-0718, утв. Мин-вом здравоохр. Респ. Беларусь 07.09.2018 / сост. : А. В. Селицкий [и др.]. – Минск : БелМАПО, УЗ МОКБ, 2018. – 10 с.
25. Устройство для фиксации чрескостного стержня при внеочаговом остеосинтезе : пат. 7563 U Респ. Беларусь : МПК А 61В 17/00 (2006.01) / А. В. Селицкий, О. П. Кезля, Э. А. Повелица ; дата публ.: 30.08.2011.

26. Устройство для distraction и репозиции сложных сегментарных и многооскольчатых диафизарных переломов костей голени : пат. 11475 Респ. Беларусь: МПК А 61В (2006.01) / А. В. Селицкий, О. П. Кезля, Э. А. Повелица ; дата публ.: 20.03.2017.

27. Метод блокированного интрамедуллярного остеосинтеза сложных сегментарных и многооскольчатых переломов диафиза большеберцовой кости: инструкция по применению № 008-0220, утв. М-вом здравоохран. Респ. Беларусь 26.03.2018 / сост. : А. В. Селицкий [и др.]. – Минск : БелМАПО, УЗ МОКБ, 2020. – 26 с.

28. Способ заготовки аутодермотрансплантата, используемого для закрытия ран с разной степенью готовности к оперативному лечению : пат. 17959 С1 Респ. Беларусь: МПК АОIN 1/02 (2006.01) / А. В. Селицкий, О. П. Кезля, Э. А. Повелица ; дата публ.: 28.02.2014.

References

1. Kuvshinkin A. A. *Combined stable osteosynthesis in the treatment of patients with diafisal fractures of the tibia bones*. Abstract of Ph. D. diss. Saratov, 2011. 26 p. (in Russian).
2. Chua W., Murphy D., Siow W., Kagda F., Thambiah J. Epidemiological analysis of outcomes in 323 open tibial diaphyseal fractures: a nine-year experience. *Singapore Medical Journal*, 2012, vol. 53, no. 6, pp. 385–389.
3. Chelnokov A. N., Vinogradskii A. E., Shlykov I. L., Stel'makh K. K., Kim A. P. Evaluation of safety and efficiency of sequential transosseous and closed intramedullary osteosynthesis. *Lechenie povrezhdenii i zabolevanii taza. Novye tekhnologii v lechenii povrezhdenii i zabolevanii oporno-dvigatel'noi sistemy: tezisy konferentsii (17–18 sentyabrya 2003 g., Ekaterinburg)* [Treatment of injuries and diseases of the pelvis. New technologies in the treatment of injuries and diseases of the musculoskeletal system: abstract of the conference (September 17–18, 2003, Yekaterinburg)]. Yekaterinburg, 2003, pp. 269–272 (in Russian).
4. Litvina E. A. *Modern surgical treatment of multiple and combined fractures of limb bones and pelvis*. Abstract of D. Sc. diss. Moscow, 2010. 38 p. (in Russian).
5. Pape H.-C., Sanders R., Borrelli J. (eds.). *The poly-traumatized patient with fractures*. Berlin, Heidelberg, 2011. – 361 p.
6. Khudnitskii S. I. Treatment of patients with diafisar fractures of shin bones by the method of JSC : review. *Zdravookhraneniye = Healthcare*, 2000, no. 10, pp. 37–42 (in Russian).
7. Aslan A. A., Uysal E., Özmeriç A. staged surgical treatment outcome of type 3 open tibial fractures. *ISRN Orthopedics*, 2004, vol. 2004, art. ID 721041. <https://doi.org/10.1155/2014/721041>
8. Gryaznukhin E. G., Kanykin A. Yu., Anisimov A. I., Pervez A. Analysis of adverse outcomes of multiple fractures of limb bones. *Zabolevaniya i povrezhdeniya oporno-dvigatel'nogo apparata u vzroslykh: tezisy V oblastnoi nauchno-prakticheskoi konferentsii* [Diseases and injuries of the musculoskeletal system in adults: theses of the V regional scientific and practical conference]. St. Petersburg, 1999, pp. 15–16 (in Russian).
9. Rajasekaran S., Dheenadhayalan J., Babu J. N., Sundararajan S. R., Venkatramani H., Sabapathy S. R. Immediate primary skin closure in type-III A and B open fractures: results after a minimum of five years. *Journal of Bone and Joint Surgery. British volume*, 2009, vol. 91-B, no. 2, pp. 217–224. <https://doi.org/10.1302/0301-620x.91b2.21228>
10. Giannoudis P. V., Papakostidis C., Kouvidis G., Kanakaris N. K. The role of plating in the operative treatment of severe open tibial fractures: a systematic review. *International Orthopaedics*, 2009, vol. 33, no. 1, pp. 19–26. <https://doi.org/10.1007/s00264-007-0443-5>
11. Safuan Yu. *Multiple diafisar fractures of the long bones of the lower limbs and their complex treatment*. Abstract of Ph. D. diss. Tashkent, 1991. 17 p. (in Russian).
12. Bonneville P., Cariven P., Bonneville N., Mansat P., Martinel V., Verhaeghe L., Mansat M. Segmental tibia fractures: a critical retrospective analysis of 49 cases. *Revue de Chirurgie Orthopédique et Réparatrice de l'Appareil Moteur*, 2003, vol. 89, no. 5, pp. 423–432.
13. Naique S. B., Pearse M., Nanchahal J. Management of severe open tibial fractures. The need for combined orthopaedic and plastic surgical treatment in specialist centres. *Journal of Bone and Joint Surgery. British volume*, 2006, vol. 88-B, no. 3, pp. 351–357. <https://doi.org/10.1302/0301-620x.88b3.17120>
14. Della Rocca G. J., Crist B. D. External fixation versus conversion to intramedullary nailing for definitive management of closed fractures of the femoral and tibial shaft. *Journal of the American Academy of Orthopaedic Surgeons*, 2006, vol. 14, no. 10, pp. S131–S135. <https://doi.org/10.5435/00124635-200600001-00030>
15. Kamath J. B., Shetty M. S., Joshua T. V., Kumar A., Harshvardhan, Naik D. M. Soft tissue coverage in open fractures of tibia. *Indian Journal of Orthopaedics*, 2012, vol. 46, no. 4, pp. 462–469. <https://doi.org/10.4103/0019-5413.97265>
16. Tikhilov R. M., Belen'kii I. G., Kutyanov D. I. The current state of the problem of the use of internal osteosynthesis in the treatment of victims with fractures of long limb bones in the conditions of the city multidisciplinary hospital of the Russian metropolis. *Travmatologiya i ortopediya Rossii* [Traumatology and orthopaedics of Russia], 2012, no. 4, pp. 17–25 (in Russian).
17. Lalić I., Daraboš N., Stanković M., Gojković Z., Obradović M., Marić D. Treatment of complex tibial plateau fractures using Ilizarov technique. *Acta Clinica Croatica*, 2014, vol. 53, no. 4, pp. 437–448.
18. Shannon F. J., Mullett H., O'Rourke K. Unreamed intramedullary nail versus external fixation in grade III open tibial fractures. *Journal of Trauma: Injury, Infection, and Critical Care*, 2002, vol. 52, no. 4, pp. 650–654. <https://doi.org/10.1097/00005373-200204000-00006>
19. Myuller M. E., All'govner M., Shnaider R., Villingger X. *Manual on internal osteosynthesis: the method recommended by the group AO (Switzerland)*. Moscow, Ad Marginem Publ., 1996. 750 p. (in Russian).

20. Sitnik A. A., Beletskii A. V. Treatment of open fractures of lower limbs in modern conditions. *Meditinskii novosti* [Medical news], 2011, no. 7, pp. 27–31 (in Russian).
21. Johner R., Wruhs O. Classification of tibial shaft fractures and correlation with results after rigid internal fixation. *Clinical Orthopaedics and Related Research*, 1983, no. 178, pp. 7–25. <https://doi.org/10.1097/00003086-198309000-00003>
22. Martel I. I., Shved I., Matsukatov F. A. Diagnosis of rotational displacements in shin fractures and a comparative assessment of the capabilities of ring devices of external fixation to eliminate them. *Ortopediya, travmatologiya i protezirovaniye* [Orthopaedics, traumatology and prosthetics], 2014, no. 4, pp. 85–92 (in Russian).
23. Selitskii A. V., Kezlya O. P., Kharkovich I. I., Povelitsa E. A. *Method of osteosynthesis in diafisar tibia fractures. Patent 20205 C2* of the Republic of Belarus, MPC A 61B 17/56 (2006.01), 2015 (in Russian).
24. Selitskii A. V., Kezlya O. P., Gerasimenko M. A., Ben'ko A. N., Ladut'ko Yu. N., Yarmolovich V. A., Khakhel'ko K. E., Kovalenko A. Yu. *Method of the combined chreskostny osteosynthesis complex segmental and complex irregular the tibial diaphysis fractures: the instruction for application*. Minsk, Ministry of Health of Republic of Belarus, 2018. 10 p. (in Russian).
25. Selitskii A. V., Kezlya O. P., Povelitsa E. A. *Device for fixation of transosseous rod in case of extracutaneous osteosynthesis*. Patent of the Republic of Belarus, MPC A 61B 17/00 (2006.01), 2011 (in Russian).
26. Selitskii A. V., Kezlya O. P., Povelitsa E. A. *Device for distraction and reposition of complex segmental and complex irregular diafisar fractures of tibia bones*. Patent of the Republic of Belarus, MPC A 61B (2006.01), 2017 (in Russian).
27. Selitskii A. V., Kezlya O. P., Yarmolovich V. A., Ben'ko A. N., Ladut'ko Yu. N., Khakhel'ko K. E., *Method of the intramedullary nailing complex segmental and complex irregular the tibial diaphysis fractures: the instruction for application*. Minsk, Ministry of Health of Republic of Belarus 2020. 26 p. (in Russian).
28. Selitskii A. V., Kezlya O. P., Povelitsa E. A. *Method for procurement of autodermograft used for wound closure with different degree of readiness for operative treatment*. Patent of the Republic of Belarus, IASC AOIN 1/02 (2006.01), 2014 (in Russian).

Информация об авторах

Селицкий Антон Вацлавович – ст. преподаватель. Белорусская медицинская академия последипломного образования (ул. П. Бровки, 3/3, 220013, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: info@belmapo.by

Кезля Олег 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: info@belmapo.by

Information about the authors

Anton V. Sialitski – Senior Lecturer. Belarusian Medical Academy of Postgraduate Education (3/3, Brovka Str., 220013, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: info@belmapo.by

Oleg P. Kezlya – D. Sc. (Med.), Professor, Head of the Department. Belarusian Medical Academy of Postgraduate Education (3/3, Brovka Str., 220013, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: info@belmapo.by

А. Н. Хархаль, Л. П. Титов, О. О. Янович

Республиканский научно-практический центр эпидемиологии и микробиологии,
Минск, Республика Беларусь

МОЛЕКУЛЯРНАЯ ЭВОЛЮЦИЯ ФРАГМЕНТОВ 7 ГЕНОВ «ДОМАШНЕГО ХОЗЯЙСТВА», ИСПОЛЬЗУЕМЫХ В СМЕХЕ МУЛЬТИЛОКУСНОГО СИКВЕНС-ТИПИРОВАНИЯ МЕНИНГОКОККОВ

Аннотация. Изучен характер генетической изменчивости фрагментов генов «домашнего хозяйства» (ГДХ) менингококков, циркулирующих в популяции населения Беларуси.

Секвенирование 7 ГДХ проводили по Сэнгеру (ABI3500). Филогенетические связи определяли с помощью программы MEGA X. SNPs анализировали онлайн на платформе базы данных в pubMLST.org.

Показано, что менингококки, циркулировавшие в Беларуси в 2011–2018 гг., содержат 17 аллелей фрагмента гена *abcZ* (5,9 % впервые выявленных в Беларуси – *abcZ* 1016), кодирующих 5 вариантов ABC-переносчика; 16 аллелей гена фрагмента *adk* – 2 варианта аденилатциклазы; 17 аллелей *aroE* (11,8 % «белорусских» – *aroE* 944 и *aroE* 972) – 14 вариантов шикимат дегидрогеназы; 24 аллели *fumC* (4,2 % «белорусских» – *fumC* 988) – 4 варианта фумарат дегидратазы; 18 аллелей *gdh* (16,7 % впервые выявленных в Беларуси – *gdh* 560, *gdh* 985 и *gdh* 1083) – 4 варианта глюкозо-6-фосфат дегидрогеназы; 18 аллелей *pdhC* – 11 вариантов субъединицы пируватдегидрогеназы и 20 аллелей *pgm* – 13 вариантов фосфоглюкомутазы (5,6 и 5 % «белорусских» аллелей соответственно – *pdhC* 888 и *pgm* 1099). Доминирующие аллели: *abcZ* 8 – 25 %, *adk* 5 – 30, *aroE* 6 – 28,3, *fumC* 17 – 30, *gdh* 560 – 20, *pdhC* 18 – 21,7, *pgm* 2 – 25 %.

Установлено, что популяция менингококков, циркулирующих среди населения Беларуси, разнообразна и включает как локальные аллели фрагментов ГДХ (7,7 %), так и аллели, выявленные у менингококков в других странах (92,3 %). Количество SNPs в ГДХ варьируется от 29 (*adk*) до 125 (*aroE*). Полиморфизм ГДХ носит, как правило, синонимичный характер, приводя к аминокислотным заменам в диапазоне от 0,6 % случаев во фрагменте гена аденилатциклазы до 26,4 % в шикимат дегидрогеназе.

Ключевые слова: менингококк, гены «домашнего хозяйства», аллели, рекомбинация, SNPs, эволюция

Для цитирования: Хархаль, А. Н. Молекулярная эволюция фрагментов 7 генов «домашнего хозяйства», используемых в смехе мультилокусного сиквенс-типирования менингококков / А. Н. Хархаль, Л. П. Титов, О. О. Янович // Вест. Нац. акад. наук Беларусі. Сер. мед. навук. – 2020. – Т. 17, № 3. – С. 301–319. <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2020-17-3-301-319>

Hanna N. Kharkhal, Leonid P. Titov, Olga O. Yanovich

Republican Scientific and Practical Center for Epidemiology and Microbiology, Minsk, Republic of Belarus

MOLECULAR EVOLUTION OF THE MENINGOCOCCAL FRAGMENTS OF 7 HOUSE-KEEPING GENES

Abstract. The objective of the article was to determine the variability of meningococcal house-keeping gene alleles circulating in Belarus.

House-keeping genes sequencing was made by Sanger (ABI 3500). The phylogenetic analysis was done in MEGA X. SNPs were analyzed at pubMLST.org.

60 Belarusian meningococci, collected during 8 years, contain 17 alleles of *abcZ* gene (5.9 % first identified in Belarus – *abcZ* 1016) encoding 5 variants of the ABC transporter; 16 *adk* gene alleles – 2 variants of adenylate cyclase; 17 alleles of *aroE* gene (11.8 % Belarusian – *aroE* 944 and *aroE* 972) – 14 variants of shikimat dehydrogenase; 24 alleles of *fumC* gene (4.2 % Belarusian – *fumC* 988) – 4 variants of fumarate dehydratase; 18 alleles of *gdh* gene (16.7 % first identified in Belarus – *gdh* 560, *gdh* 985 and *gdh* 1083) – 4 variants of glucose-6-phosphate dehydrogenase; 18 alleles of *pdhC* gene – 11 variants of pyruvate dehydrogenase subunit and 20 alleles of *pgm* gene – 13 variants of phosphoglucosmutase (5.6 and 5 % of Belarusian alleles – *pdhC* 888 and *pgm* 1099 respectively). Dominant alleles are *abcZ* 8 – 25 %, *adk* 5 – 30, *aroE* 6 – 28.3, *fumC* 17 – 30, *gdh* 560 – 20, *pdhC* 18 – 21.7, *pgm* 2 – 25 %.

The Belarusian meningococcal population is diverse and includes both its own house-keeping gene alleles (7.7 %) and those circulating in other countries (92.3 %). The number of SNPs is varied from 29 (*adk*) to 125 (*aroE*). Single nucleotide

polymorphisms are mostly synonymous and, on average, lead to amino acid substitutions in the range from 0.6 % in adenylate cyclase and up to 26.4 % in shikimate dehydrogenase.

Keywords: meningococcus, house-keeping genes, alleles, recombination, SNPs, evolution

For citation: Kharkhal H. N., Titov L. P., Yanovich O. O. Molecular evolution of the meningococcal fragments of 7 house-keeping genes. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seriya meditsinskikh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2020, vol. 17, no. 3, pp. 301–319 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2020-17-3-301-319>

Введение. Нормальная микрофлора носоглотки человека многообразна и представлена родами *Moraxella* (40 %), *Haemophilus* (20 %), *Streptococcus* (12 %), *Flavobacterium* (10 %), *Dolosigranulum* (5 %), *Corynebacterium* (2 %), *Neisseria* (2 %) и *Fusobacterium* (1 %) [1]. Наиболее частыми представителями рода *Neisseria* назофарингеального микробиома человека являются *N. perflava*, *N. sicca*, *N. mucosa*, *N. flava*, *N. cinerea*, *N. lactamica*, *N. flavescens*, *N. subflava* и *N. meningitidis* [2]. Менингококки способны справляться с изменяющимися концентрациями кислорода и с ограничениями в доступе к ключевым питательным веществам (аминокислотам и сере), что позволяет им успешно заселять носоглотку человека, выступая в качестве единственной экологической ниши [3]. Человеческий микробиом в целом считается полезным для хозяина благодаря стимуляции иммунной системы и защитных функций слизистой оболочки, которые обеспечивают «устойчивость к колонизации» патогенных микроорганизмов [1]. Традиционно проводились исследования по поиску факторов вирулентности у изолятов, ассоциированных с генерализованной формой менингококковой инфекции (ГФМИ), однако многие установленные факторы вирулентности были обнаружены также у непатогенных видов, таких как *N. lactamica* [4], изоляты которой могут использоваться в качестве альтернативного подхода к профилактике менингококковой инфекции [5], так как предполагается, что носительство *N. lactamica* приводит к стимуляции иммунитета против менингококков [6]. Паразитические микробы эволюционируют быстрее, чем их хозяева, поскольку скорость репродукции и способность генома к изменчивости у них многократно выше [7].

Менингококки образуют на эпителиальных клетках биопленку, которая состоит из экзополисахаридного волокнистого матрикса, имеет толщину до 50–60 мкм, содержит каналы, обеспечивающие питанием заключенные в матрикс бактерии [8–10]. Пластичность менингококка, его приспособляемость к изменяющимся условиям внешней среды определяются генетической неоднородностью или гетерогенностью популяции возбудителя [11], обусловленной высокой частотой мутаций, скоростью рекомбинации, возможностью захвата ДНК из окружающей среды [12–15]. Геном *N. meningitidis* в среднем состоит из 2,13 млн пар оснований (GC-состав – 51,7 %) и содержит от 2015 до 2393 генов, кодирующих до 2665 белков (NCBI, 1973 аннотированных генома) [16]. Кор-геном менингококка имеет предположительно 1630 ± 62 гена [17].

В микробных сообществах происходят как геноспецифические, так и геномно-селективные процессы, являющиеся частью процессов адаптации. Адаптация представляет собой комплексный процесс (регуляция, эпигенетические события, рекомбинации и мутации), с помощью которого организм или вид приспособляется к выживанию в занимаемой экологической нише [18]. Изменения единичных нуклеотидов вызываются точечными мутациями – SNP (однонуклеотидный полиморфизм) [19], тогда как вставки/делеции нуклеотидов обусловлены, вероятно, событиями рекомбинации участков ДНК [13]. Гомологичная рекомбинация – это метаболический процесс, который обеспечивает высокоточное восстановление сложных повреждений ДНК [20]. Комменсалы и непатогенные виды бактерий служат резервуарами аллелей вирулентности и активно участвуют в обмене генами и фрагментами генов, в основном посредством гомологичной рекомбинации [4]. Системы рестрикции-модификации могут не только обеспечивать защиту от чужеродной ДНК, но и играть важную роль при генетическом обмене [4, 17]. Так, менингококковые белки системы CRISPR-Cas II типа помимо участия в создании адаптивного иммунитета участвуют в процессах регуляции экспрессии генов, генов группового поведения, изменения вирулентности за счет модификации поверхностных структур, в ремоделировании генома и репарации ДНК [21].

На эффективность адаптации на молекулярно-генетическом уровне большое влияние оказывают условия, в которых существовала популяция до воздействия стрессорного фактора или

смены экологической ниши: интенсивность воздействия фактора, фаза роста, размер и плотность популяции, стадия жизнедеятельности бактерий (планктон, подвижная форма, биопленка), фенотипическая гетерогенность популяции [18]. В то же время один и тот же стрессорный фактор может оказывать различные эффекты на разные типы изменчивости [22]. К адаптационным процессам относится также «питательная вирулентность», включающая конкретные механизмы использования продуктов основных биосинтетических путей хозяина [3].

Цель настоящего исследования – изучение характера генетической изменчивости фрагментов 7 генов «домашнего хозяйства» (ГДХ) менингококка, поступивших в Республиканскую референс-лабораторию по диагностике инвазивных бактериальных заболеваний (лаборатория клинической и экспериментальной микробиологии РНПЦ эпидемиологии и микробиологии, приказ МЗ РБ № 1102 от 20.09.2012) из учреждений здравоохранения страны за период с 2011 по 2018 г.

Материалы и методы исследования. Материалом для исследования являлись 60 изолятов *N. meningitidis*, выделенных в период с февраля 2011 г. по май 2018 г. из биологического материала пациентов с ГФМИ и бактерионосителей из различных регионов Беларуси (Минск – 45 %, Брестская обл. – 20; Могилевская обл. – 16,7; Витебская обл. – 8,3; Гродненская обл. – 5; Минская обл. – 3,3 и Гомельская обл. – 1,4 %). Распределение по годам следующее: 2011 г. – 6,7 %; 2013 г. – 21,7; 2014 г. – 8,3; 2015 г. – 10; 2016 г. – 11,7; 2017 г. – 34,9; 2018 г. – 6,7 %. Изоляты были получены от лиц мужского и женского пола (63 и 37 % соответственно) в возрасте от 5 мес. до 62 лет (средний возраст – 14,5 лет, межквартильный размах – 1 год и 1 мес.–21 год).

Культивирование микроорганизмов осуществляли на GC-агаре (Conda, Испания) с добавлением 20 %-ной лошадиной сыворотки крови («Химмедсинтез», Беларусь), а также VCNT (Himedia, Индия) в CO₂-инкубатор (37 °C) и 5–10 % CO₂ в течение 20–24 ч. ДНК из культур менингококка получали путем кипячения при 100 °C в течение 10 мин ресуспензированной 18–24-часовой культуры (3,0 McF) в 10 mM Трис-буфере (pH 8,0) (Fermentas, Латвия), после чего пробирки центрифугировали при 12 000 об/мин в течение 4 мин. ДНК из образцов биологического материала (спинномозговая жидкость (СМЖ), кровь, ткани мозга) экстрагировали с помощью коммерческих наборов innuPREP Blood DNA Mini Kit (Analyticjena, Германия) и NucleoSpin® Blood Mini Kit (Macherey-Nagel, Германия) согласно инструкциям производителя.

Молекулярно-генетическую идентификацию изолятов проводили методом ПЦР в режиме реального времени с детекцией видоспецифического гена супероксиддисмутазы *S* (*sodC*) на амплификаторе Rotor-gene 3000 (Corbett Research, Австралия) с установленной программой: 1 цикл при 95 °C 10 мин, далее 45 циклов при 95 °C 15 с и при 60 °C 60 с с детекцией флуоресценции на канале FAM [23]. Амплификацию 7 ГДХ проводили в 25 мкл смеси, содержащей 0,25 мкл HF ДНК-полимеразы и 10 мкл 10×-буфера HF (Институт микробиологии НАН Беларуси), 20 мкМ праймеры (*abcZ*: F: tgttccgcttcgactgccaaac, R: tccccgctgtaaaaaacaatc; *adk*: F: ccaagccgtgtagaatcgtaaacc, R: tgcccaatcgcccaatac; *aroE*: F: ttgaaacagcggttgccg R: cagcgtaatccagtcgac; *fumC*: F: tccccgctgaaagccctg, R: gcccgctcagaagcccaac; *gdh*: F: ctgccccggggtttcatct, R: tgttgccggtatttcaaagaagg; *pdhC*: F: ccggccgtacgacgctgaac, R: gatgtcggaatggggcaaca; *pgm*: F: ctcaaacctacgacatccg R: cggattgcttcgatgacggc) [23], 2 мкл ДНК и необходимый объем воды для ПЦР. Температурно-временной режим на амплификаторе PCR Express (Hybaid, США): 1 цикл при 94 °C в течение 2 мин, 35 циклов при 94 °C по 1 мин, при 62 °C 40 с и при 72 °C 2 мин, 1 цикл при 72 °C в течение 1 мин. Детекцию продуктов ПЦР осуществляли в 2 %-ном агарозном геле после проведения электрофореза в течение 50 мин при напряжении 7 В/см. ДНК из геля выделяли, используя коммерческие наборы QIAquick® Gel Extraction Kit (Qiagen, Германия) и «АртДНК MiniSpin Гель» («Артбиотех», Беларусь). Для проведения реакции циклического секвенирования использовали коммерческий набор BigDye™ Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems, США), применяя для очистки продуктов метод пересадки. Гель-электрофорез с детекцией нуклеотидной последовательности проводили в генетическом анализаторе AB3500 (Applied Biosystems, США). Аллель каждого из фрагментов 7 ГДХ определяли путем ее сравнения с имеющимися в базе PubMLST данными (<http://pubmlst.org/>), в случае определения новой аллели гена подавали заявку на регистрацию [24]. Для филогенетического анализа новых аллелей ГДХ менингококка использовали метод

17 alleles included in analysis. 75 polymorphic sites found.



Рис. 1. Определение сайтов полиморфизма аллелей фрагмента гена *abcZ*. Цветовые коды обозначают вероятность появления нуклеотида в конкретной позиции (pubMLST.org)

Fig. 1. Determining SNPs in the *abcZ* gene. The color codes represent the percentage of alleles that have a particular nucleotide at each position (pubMLST.org)

Neighbor-Joining (программа MEGA X версии 10.0.5) [25], позволяющий определить их родство с существующими в мире аллелями *N. meningitidis* с помощью последовательностей фрагментов ГДХ *N. lactamica* и *N. gonorrhoeae* в качестве контролей. GC-состав каждой аллели определяли онлайн (www.endmemo.com/bio/gc.php), сайты полиморфизма для каждого фрагмента ГДХ – с использованием встроенных в pubMLST алгоритмов Polymorphic sites [24] с последующим разделением SNPs на транзиции и трансверсии (рис. 1). Частоту транзиций (P) и трансверсий (Q) определяли по описанным ранее формулам [26].

Перевод нуклеотидной последовательности в аминокислотную проводили онлайн (<https://web.expasy.org/translate/>). Выравнивание и анализ аминокислотных последовательностей осуществляли с помощью программы MEGA X версии 10.0.5 [25], ввод, статистическую обработку и анализ данных – с использованием пакета программ Microsoft Office, version 16.0. Для статистической оценки использовали критерий χ^2 . Различия считали статистически достоверными при $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение. Молекулярные изменения в структуре фрагментов ГДХ, как правило, являются нейтральными, так как большинство протеиногенных аминокислот кодируются более чем одним кодоном. Тем не менее некоторые нуклеотидные вариации могут приводить к аминокислотным заменам, что может способствовать появлению высокоинвазивных вариантов патогена [27, 28].

Аллели, встречающиеся у менингококков на территории Беларуси ранее (2006–2010) [17, 29, 30], были выявлены также в нашем исследовании. Данные аллели принадлежали большинству менингококков, различий в частоте встречаемости за оба периода не обнаружено ($p > 0,05$). Количество аллелей фрагментов генов не соответствует количеству вариантов экспрессируемого продукта и варьируется в среднем от 1,2 до 8 аллелей на один вариант фрагмента белка (табл. 1). Наиболее часто встречающиеся в белках аминокислоты лейцин и серин кодируются шестью кодонами; аланин, валин, глицин и цистеин – двумя-четырьмя; метионин и триптофан – одним [28]. Максимальное аллельное разнообразие характерно для фрагмента гена *fumC* – 24 аллели, которые кодируют лишь 4 варианта фумарат гидратазы, т. е. на один вариант аминокислотной последовательности приходится в среднем 6 аллелей *fumC*. Максимальное белковое разнообразие отмечено у шикимат дегидрогеназы, у которой в среднем один вариант аминокислотной последовательности кодируется 1–2 аллелями фрагмента гена *aroE*. Существует зависимость между GC-составом нуклеотидной последовательности и аминокислотным составом кодируемого белка (табл. 2): GC-богатые фрагменты чаще кодируют глицин, аланин, аргинин и пролин,

а GC-бедные – фенилаланин, тирозин, метионин, изолейцин, аспарагин и лизин [26]. Аминокислотный состав белка (его первичная структура) оказывает влияние на вторичную структуру. Для α -спирали характерны аланин, цистеин, лейцин, метионин, глутаминовая кислота, глутамин, гистидин и лизин. Образованию β -спирали чаще способствуют валин, изолейцин, фенилаланин, тирозин, триптофан и треонин, в местах изгиба полипептидной цепи – глицин, серин, аспарагиновая кислота, аспарагин, пролин и аргинин [29]. В свою очередь третичная структура белка определяет его функциональную активность.

Таблица 1. Характеристика ГДХ менингококка и кодируемых белков, встречающихся на территории Беларуси в 2011–2018 гг.

Table 1. Characteristics of the meningococcal house-keeping genes and encoded proteins found in Belarus in 2011–2018

Ген, длина фрагмента, число аллелей*	Аллели ГДХ менингококков
<i>abcZ</i> , 433 п. н., 1062/17 (1,6 %)	АВС-переносчик 1 (36,7 %) – <i>abcZ 8</i> , <i>abcZ 9</i> , <i>abcZ 689</i> АВС-переносчик 2 (26,7 %) – <i>abcZ 4</i> , <i>abcZ 5</i> , <i>abcZ 6</i> , <i>abcZ 20</i> , <i>abcZ 46</i> АВС-переносчик 3 (16,7 %) – <i>abcZ 2</i> , <i>abcZ 13</i> , <i>abcZ 1016</i> АВС-переносчик 4 (13,2 %) – <i>abcZ 3</i> , <i>abcZ 12</i> , <i>abcZ 25</i> , <i>abcZ 79</i> , <i>abcZ 180</i> АВС-переносчик 5 (6,7 %) – <i>abcZ 7</i>
<i>adk</i> , 465 п. н., 827/16 (1,9 %)	Аденилатциклаза 1 (96,7 %) – <i>adk 1</i> , <i>adk 3</i> , <i>adk 4</i> , <i>adk 5</i> , <i>adk 6</i> , <i>adk 7</i> , <i>adk 8</i> , <i>adk 9</i> , <i>adk 16</i> , <i>adk 17</i> , <i>adk 18</i> , <i>adk 35</i> , <i>adk 60</i> , <i>adk 80</i> , <i>adk 338</i> Аденилатциклаза 2 (3,3 %) – <i>adk 10</i>
<i>aroE</i> , 490 п. н., 1108/17 (1,5 %)	Шикимат дегидрогеназа 1 (28,3 %) – <i>aroE 6</i> Шикимат дегидрогеназа 2 (21,7 %) – <i>aroE 4</i> , <i>aroE 25</i> , <i>aroE 282</i> , <i>aroE 639</i> Шикимат дегидрогеназа 3 (11,7 %) – <i>aroE 9</i> Шикимат дегидрогеназа 4 (8,3 %) – <i>aroE 15</i> Шикимат дегидрогеназа 5–6 (по 6,7 %) – <i>aroE 10</i> , <i>aroE 7</i> Шикимат дегидрогеназа 7 (3,3 %) – <i>aroE 5</i> Шикимат дегидрогеназа 8 (3,3 %) – <i>aroE 1</i> Шикимат дегидрогеназа 9–14 (по 1,7 %) – <i>aroE 11</i> , <i>aroE 12</i> , <i>aroE 26</i> , <i>aroE 38</i> , <i>aroE 944</i> , <i>aroE 972</i>
<i>fumC</i> , 465 п. н., 1185/24 (2,0 %)	Фумарат гидратаза 1 (58,3 %) – <i>fumC 1</i> , <i>fumC 3</i> , <i>fumC 7</i> , <i>fumC 8</i> , <i>fumC 9</i> , <i>fumC 13</i> , <i>fumC 15</i> , <i>fumC 19</i> , <i>fumC 26</i> , <i>fumC 34</i> , <i>fumC 37</i> , <i>fumC 39</i> , <i>fumC 40</i> , <i>fumC 56</i> , <i>fumC 133</i> , <i>fumC 216</i> , <i>fumC 707</i> , <i>fumC 988</i> Фумарат гидратаза 2 (35 %) – <i>fumC 2</i> , <i>fumC 17</i> , <i>fumC 113</i> , Фумарат гидратаза 3 (5 %) – <i>fumC 4</i> , <i>fumC 264</i> Фумарат гидратаза 4 (1,7 %) – <i>fumC 18</i>
<i>gdh</i> , 501 п. н., 1140/18 (1,6 %)	Глюкозо-6-фосфат дегидрогеназа 1 (58,3 %) – <i>gdh 3</i> , <i>gdh 5</i> , <i>gdh 8</i> , <i>gdh 21</i> , <i>gdh 25</i> , <i>gdh 67</i> , <i>gdh 560</i> Глюкозо-6-фосфат дегидрогеназа 2 (31,7 %) – <i>gdh 1</i> , <i>gdh 6</i> , <i>gdh 9</i> , <i>gdh 10</i> , <i>gdh 11</i> , <i>gdh 17</i> , <i>gdh 22</i> , <i>gdh 985</i> , <i>gdh 1083</i> Глюкозо-6-фосфат дегидрогеназа 3 (8,3 %) – <i>gdh 249</i> Глюкозо-6-фосфат дегидрогеназа 4 (1,7 %) – <i>gdh 36</i>
<i>pdhC</i> , 480 п. н., 1076/18 (1,7 %)	Пируватдегидрогеназа 1 (25 %) – <i>pdhC 18</i> , <i>pdhC 32</i> , <i>pdhC 53</i> Пируватдегидрогеназа 2 (20 %) – <i>pdhC 6</i> , <i>pdhC 127</i> Пируватдегидрогеназа 3 (16,7 %) – <i>pdhC 3</i> , <i>pdhC 24</i> Пируватдегидрогеназа 4 (10 %) – <i>pdhC 4</i> Пируватдегидрогеназа 5 (6,7 %) – <i>pdhC 13</i> , <i>pdhC 40</i> , <i>pdhC 41</i> Пируватдегидрогеназа 6 (6,7 %) – <i>pdhC 22</i> , <i>pdhC 888</i> Пируватдегидрогеназа 7 (6,7 %) – <i>pdhC 1</i> Пируватдегидрогеназа 8 (3,3 %) – <i>pdhC 31</i> Пируватдегидрогеназа 9–11 (по 1,7 %) – <i>pdhC 10</i> , <i>pdhC 93</i> , <i>pdhC 105</i>
<i>pgm</i> , 450 п. н., 1159/20 (1,7 %)	Фосфоглюкомутаза 1 (25 %) – <i>pgm 8</i> , <i>pgm 15</i> , <i>pgm 30</i> , <i>pgm 120</i> , <i>pgm 152</i> Фосфоглюкомутаза 2 (25 %) – <i>pgm 2</i> Фосфоглюкомутаза 3 (18,3 %) – <i>pgm 9</i> , <i>pgm 16</i> , <i>pgm 18</i> , <i>pgm 74</i> Фосфоглюкомутаза 4 (10 %) – <i>pgm 6</i> Фосфоглюкомутаза 5 (5 %) – <i>pgm 21</i> Фосфоглюкомутаза 6 и 7 (по 3,3 %) – <i>pgm 3</i> , <i>pgm 464</i> Фосфоглюкомутаза 8 – 13 (по 1,7 %) – <i>pgm 1</i> , <i>pgm 12</i> , <i>pgm 13</i> , <i>pgm 20</i> , <i>pgm 121</i> , <i>pgm 1099</i>

* Приведено (через косую черту) общее число аллелей данного гена, выделенных в мире (pubMLST.org, 13.02.2020), и число аллелей, выявленных в белорусских изолятах; жирным шрифтом отмечены аллели, впервые выявленные в Беларуси; подчеркнуты аллели, встречавшиеся ранее у «белорусских» менингококков в 2006–2010 гг.

Таблица 2. Аминокислотный состав продуктов фрагментов ГДХ менингококка, n/%
 Table 2. Amino acid composition of proteins encoded by meningococcal house-keeping gene fragments, n/%

GC-состав аллелей, %	Аминокислоты			
	Неполярные	Незаряженные	Кислые	Основные
<i>АВС-переносчик, 144 АК</i>				
50,1	63/43,8	31/21,5	28/19,4	22/15,3
49,5	63/43,8	33/22,9	27/18,8	21/14,6
51,7	63/43,8	33/22,9	27/18,8	21/14,6
51,2	63/43,8	33/22,9	26/18,1	22/15,3
50,3	64/44,4	33/22,9	26/18,1	21/14,6
<i>Аденилатциклаза, 155 АК</i>				
52,5	61/39,4	36/23,2	33/21,3	25/16,1
51,8	61/39,4	36/23,2	33/21,3	25/16,1
<i>Шикимат дегидрогеназа, 163 АК</i>				
54,3	82/50,3	46/28,2	16/9,8	19/11,7
54,7	83/50,9	48/29,4	15/9,2	17/10,4
55,9	83/50,9	47/28,8	15/9,2	18/11,0
54,9	84/51,5	47/28,8	15/9,2	17/10,4
55,5	83/50,9	47/28,8	15/9,2	18/11,0
57,7	84/51,5	49/30,1	15/9,2	15/9,2
54,7	83/50,9	48/29,4	15/9,2	17/10,4
57,3	84/51,5	48/29,4	16/9,8	15/9,2
54,3	82/50,3	46/28,2	16/9,8	19/11,7
57,8	84/51,5	48/29,4	16/9,8	15/9,2
55,1	82/50,3	47/28,8	15/9,2	19/11,7
54,7	82/50,3	47/28,8	15/9,2	19/11,7
54,9	83/50,9	47/28,8	15/9,2	18/11,0
57,1	82/50,3	48/29,4	15/9,2	18/11,0
<i>Фумарат гидратаза, 155 АК</i>				
57,2	72/46,5	54/34,8	15/9,7	14/9,0
57,5	72/46,5	54/34,8	15/9,7	14/9,0
56,2	72/46,5	54/34,8	15/9,7	14/9,0
57,6	72/46,5	55/35,5	14/9,0	14/9,0
<i>Глюкозо-6-фосфат дегидрогеназа, 167 АК</i>				
52,4	72/43,1	49/29,3	25/15,0	21/12,6
52,0	72/43,1	49/29,3	25/15,0	21/12,6
52,1	72/43,1	50/29,9	25/15,0	20/12,0
51,7	71/42,5	50/29,9	25/15,0	21/12,6
<i>Субъединица пируватдегидрогеназы, 160 АК</i>				
56,7	71/44,4	44/27,5	23/14,4	22/13,8
56,2	72/45,0	42/26,3	23/14,4	23/14,4
56,8	72/45,0	43/26,9	23/14,4	22/13,8
55,8	71/44,4	43/26,9	23/14,4	23/14,4
56,6	71/44,4	44/27,5	23/14,4	22/13,8
54,5	71/44,4	46/28,8	22/13,8	21/13,1
53,5	71/44,4	47/29,4	22/13,8	20/12,5
53,1	71/44,4	48/30,0	21/13,1	20/12,5

Окончание табл. 2

GC-состав аллелей, %	Аминокислоты			
	Неполярные	Незаряженные	Кислые	Основные
55,8	70/43,8	44/27,5	23/14,4	23/14,4
54,6	71/44,4	46/28,8	22/13,8	21/13,1
54,0	71/44,4	47/29,4	22/13,8	20/12,5
<i>Фосфоглюкомутаза, 150 АК</i>				
54,1	69/46,0	41/27,3	20/13,3	20/13,3
54,7	69/46,0	42/28,0	20/13,3	19/12,7
53,7	68/45,3	42/28,0	20/13,3	20/13,3
53,6	68/45,3	42/28,0	20/13,3	20/13,3
53,6	69/46,0	41/27,3	19/12,7	21/14,0
54,7	69/46,0	42/28,0	20/13,3	19/12,7
54,7	69/46,0	42/28,0	19/12,7	20/13,3
54,4	69/46,0	43/28,7	19/12,7	19/12,7
54,4	69/46,0	42/28,0	19/12,7	20/13,3
55,3	68/45,3	43/28,7	20/13,3	19/12,7
54,9	68/45,3	44/29,3	19/12,7	19/12,7
54,0	69/46,0	42/28,0	19/12,7	20/13,3
54,4	68/45,3	44/29,3	19/12,7	19/12,7

Примечание. неполярные аминокислоты – аланин, валин, лейцин, изолейцин, метионин, фенилаланин, триптофан, пролин; полярные гидрофильные незаряженные – глицин, треонин, цистеин, тирозин, серин, аспарагин, глутамин; кислые – аспарагиновая кислота, глутаминовая кислота; основные – аргинин, гистидин, лизин.

Анализ фрагмента гена *abcZ*. Ген *abcZ* кодирует трансмембранный белок-переносчик, состоящий из трансмембранного и нуклеотид-связывающего доменов, и относится к эволюционно древнему суперсемейству АТФ-связывающих кассетных транспортеров [30]. При выполнении секвенирования фрагмента гена *abcZ* у 60 изолятов *N. meningitidis* идентифицировано 17 различных аллелей, GC-состав которых составлял в среднем 50,8 %. Выявленные аллели кодируют 5 аминокислотных вариантов АВС-переносчика. Наиболее часто встречающимися аллелями фрагмента гена *abcZ* являлись *abcZ* 8 (25,0 %), *abcZ* 2 (13,3 %), *abcZ* 6 и 9 (по 10,0 %). Носители аллелей *abcZ* 8, *abcZ* 2 и *abcZ* 9, впервые описанные в Нидерландах в 1960-х годах, в Беларуси циркулируют с 2006 г. Аллель *abcZ* 6 распространена среди менингококков в США с 1947 г., в Беларуси отмечена с 2009 г. на территории Витебской, Могилевской областей и г. Минска. Аллель *abcZ* 689, выявленная у MenW, полученного из отделяемого носоглотки 8-летней девочки в ноябре 2014 г. (г. Минск), была описана также в Китае в июле 2014 г. Аллели *abcZ* 79 и 180, появившиеся в Чехии в 1970-х годах, были отмечены в Беларуси в 2017 г. и составили 7,1 и 14,3 % соответственно от описанных в мире. Аллель *abcZ* 25 инвазивного MenB, выделенного в июне 2017 г. (г. Барановичи), составляет 1,5 % от всех описанных в мире менингококков с данной аллелью.

Аллель *abcZ* 1016 (GC – 52 %) впервые в мире найдена у изолята менингококка, полученного из отделяемого носоглотки 59-летнего мужчины в г. Могилев в 2017 г. (рис. 2), и встречается только на территории Беларуси. Аллель наиболее близка с другими вариантами, входящими в сиквенс-типы и образующими клональный комплекс CC-11, которые встречались в разных странах мира, в том числе вызывая вспышки ГФМИ (MenW) в Буркина-Фасо и Великобритании. Аллель *abcZ* 1016 филогенетически ближе к таковой у *N. lactamica*, чем у *N. gonorrhoeae*, что можно объяснить адаптацией к выживанию в одной экологической нише, и вместе с описанными ранее *abcZ* 2 и *abcZ* 13 кодирует один тип АВС-переносчика.

Аллели *abcZ* 2, *abcZ* 4, *abcZ* 6, *abcZ* 7, *abcZ* 9, *abcZ* 12 и *abcZ* 25, описанные ранее в Беларуси и составлявшие 60 % от исследованной популяции (12/20) [31], в анализируемый период также характерны для 80 % популяции менингококка ($p = 0,074$). Обнаруженные в 2006–2010 гг. аллели *abcZ* 11, *abcZ* 16, *abcZ* 24, *abcZ* 179, *abcZ* 207 и *abcZ* 451 в наблюдаемый период не циркулировали [31].

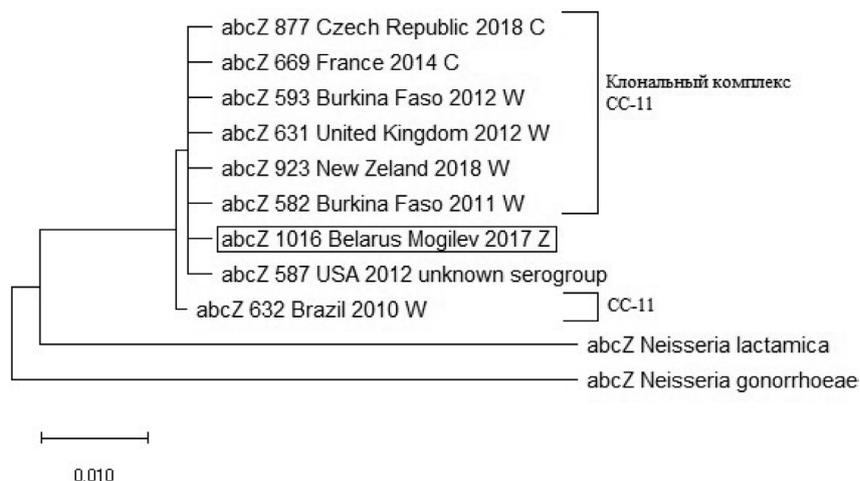


Рис. 2. Филогенетические связи новой аллели *abcZ* 1016 с наиболее близкими аллелями *Neisseria* spp. (MEGA X 10.0.5)

Fig. 2. Phylogenetic analysis of the new *abcZ* 1016 with the closest alleles of *Neisseria* spp. (MEGA X 10.0.5)

Белок, кодируемый описанными аллелями, в среднем почти наполовину (43,9 %) состоит из неполярных аминокислот. Наименьшая доля основных кислот – 14,9 %. Следует отметить, что в анализируемом белковом фрагменте не обнаружены аминокислоты метионин и цистеин (табл. 2).

Анализ фрагмента гена *adk*. Ген *adk* кодирует фермент аденилатциклазу, осуществляющую расщепление АТФ на пирофосфат и цАМФ, играющий роль вторичного посредника в сигнальных путях. При выполнении секвенирования фрагмента гена *adk* у 60 изолятов *N. meningitidis* было идентифицировано 16 различных аллелей, GC-состав которых составлял в среднем 52,5 %. Выявленные аллели кодируют лишь два варианта аденилатциклазы. Наиболее часто встречающимися на территории Беларуси аллелями фрагмента гена *adk* являлись *adk* 5 (30,0 %), *adk* 3 (20,0 %), *adk* 6 (10,0 %). Аллель *adk* 5, впервые описанная в Великобритании в 1941 г., в Беларуси циркулирует с 2006 г. в Брестской, Витебской, Могилевской областях и г. Минске. Аллель *adk* 3 с 1915 г. циркулирует в США, а с 2006 г. – в Беларуси. Аллель *adk* 6 была распространена в Нидерландах с 1960-х годов и отмечена в Беларуси с 2007 г. на территории Гродненской, Могилевской областей и в г. Минске. Аллели *adk* 80 и 338, появившиеся в Германии в 2000 и 2007 гг., были отмечены в Беларуси в 2017 г. Аллель *adk* 60 изолята MenB, полученного из отделяемого носоглотки 48-летней женщины в октябре 2013 г. в г. Слуцк, ранее была описана в Чехии в 1975 г. Всего в мире отмечено 4 изолята с данной аллелью: 1 – в Беларуси, 3 – в Чехии (1975, 2014, 2017). «Белорусские» менингококки с аллелью *adk* 9 составляют 22,2 % от всех описанных в мире и отмечены в городах Брест и Ивацевичи в 2017 г. Аллель описана в Дании (1940), Норвегии и Германии (1991), Испании (2000), Нидерландах (2006) и во Вьетнаме (2014, 2019). Для последовательности фрагмента гена *adk* характерны высокая степень консервативности и низкий темп эволюции, что объясняется высокой функциональной значимостью аденилатциклазы в сигнальных путях бактерий [30]. Аллели *adk* 3, *adk* 5, *adk* 6, *adk* 8, *adk* 17 и *adk* 18, описанные ранее в Беларуси и составлявшие 85 % от аллелей исследованной популяции (17/20) [31], в анализируемый период были характерны также для 72 % популяции менингококка ($p = 0,234$). Обнаруженные в 2006–2010 гг. аллели *adk* 2 и *adk* 143 в наблюдаемый период отмечены не были [31]. Исследуемые белковые фрагменты аденилатциклазы не содержали лишь одну протеиногенную аминокислоту – триптофан (см. табл. 2).

Анализ фрагмента гена *aroE*. Ген *aroE* кодирует фермент шикимат дегидрогеназу, участвующую в процессе НАДФН⁺-зависимого синтеза ароматических аминокислот по шикиматному метаболическому пути, и большое число других метаболитов [3]. При выполнении секвенирования фрагмента гена *aroE* у 60 изолятов *N. meningitidis* было идентифицировано 17 различных аллелей (GC – 55,5 %), кодирующих 14 вариантов шикимат дегидрогеназы, при этом 13 (76,5 %) аллелям соответствовала отдельная аминокислотная последовательность. Наиболее часто встре-

чаюцца аллелямі фрагмента гена *aroE* яўляліся *aroE* 6 (28,3 %), *aroE* 4 (16,7 %) і *aroE* 9 (11,7 %). Аллель *aroE* 6, впершыце апісаная ў Нідэрландах у 1960 г., у Беларусі цыркулюе з 2006 г. на тэрыторыі Брэстскай, Гомельскай, Могілеўскай абласцей і ў г. Мінску. Аллель *aroE* 4 з 1952 г. цыркулюе ў Вялікабрытаніі, а з 2006 г. – у Беларусі на тэрыторыі Брэстскай, Віцебскай, Мінскай, Могілеўскай абласцей і ў г. Мінску. Аллель *aroE* 9 была распаўсюджаная ў Даніі ў 1940 г. і адзначена ў Беларусі з 2006 г. на тэрыторыі гарадоў Мінск і Могілеў. Аллель *aroE* 944 (GC – 54,9 %), впершыце ў свеце апісаная ў ізоляце менингококка, атрыманым з аддзяляемага носоглоткі 50-летняга мужчыны ў г. Могілеў у 2017 г., мае агульныя сувязі з еўрапейскімі аллелямі, але больш высокую скорасць эвалюцыі. Аллель *aroE* 972 (GC 57,1 %) выяўлена ў г. Слуцк у 2013 г. Новыя аллелі сустракаюцца толькі на тэрыторыі Беларусі (рис. 3) і кодуюць свой тып шікімат дегідрогеназы. Аллель *aroE* 639, выяўленая ў MenB ў г. Мінск у студзені 2018 г., 9 гадамі раней впершыце была апісаная ў Даніі. Аллель *aroE* 26 «беларускіх» менингококкаў, складаючая 6,3 % ад усіх выяўленых у свеце, таксама апісаная ў Нідэрландах (1961), Чэхіі і США (1993), Германіі (2000), Польшы (2002), Расіі (2011). Аллель *aroE* 282 апісаная ў MenA ў трых краінах свету: ў Расіі («расійскія» штабмы складаюць 95,7 % ад апісаных у свеце і цыркулявалі ў перыяд з 2002 па 2012 г.), Беларусі (г. Баранавічы, 2013) – 1,4 %, Турцыі (2014) – 2,9 % ізолятаў.

Аллелі *aroE* 4, *aroE* 6, *aroE* 7, *aroE* 9 і *aroE* 15, апісаныя раней у Беларусі і складаючыя 85 % ад аллелей даследаванай папуляцыі (17/20) [31], у аналізаваным перыяд былі характэрны таксама для 72 % папуляцыі менингококка ($p = 0,234$). Обнаўленыя ў 2006–2010 гг. аллель *aroE* 243 і «беларускія» аллелі *aroE* 602 і *aroE* 603 ў аналізаваным перыяд не выяўлены [31].

Аналіз фрагмента гена *fumC*. Ген *fumC* кодуюць фермент цыкла Кребса – фумарат гідратазу, складаючы з 4 аднаковых суб’ядынак і каталізуе пераўтварэнне фумарата шляхам яго гідратацыі [3]. Пры выкананні секвеніравання фрагмента гена *fumC* у 60 ізолятаў *N. meningitidis* было ідэнтыфіцыравана 24 розных аллелей (GC-состав – у сярэднім 57,2 %), якія кодуюць 4 тыпаў фумарат гідратазы. Найбольш часта сустракаюцца аллелямі фрагмента гена *fumC* яўляліся *fumC* 17 (30 %), *fumC* 3 (10 %), *fumC* 9 і *fumC* 13 (па 8,3 %). Аллелі *fumC* 17 і *fumC* 3, впершыце апісаныя ў Нідэрландах у 1960 г., на тэрыторыі Беларусі цыркулююць з 2006 г. Аллель *fumC* 9 з 1947 г. цыркулюе ў США, а з 2006 г. – у Беларусі. Аллель *fumC* 13 была распаўсюджаная ў Даніі ў 1940 г., а з 2011 г. адзначена ў Беларусі. Аллель *fumC* 216, выяўленая ў MenB ў г. Могілеў у снежні 2017 г., апісаная раней толькі ў Нідэрландах (2001) у пацыента з ГФМІ. «Беларускія» менингококкі з аллелью *fumC* 113 складаюць 14,3 % ад усіх апісаных у свеце (1/7), якая выяўлена таксама ў Еўросоюзе, Ізраіле, Кітае і Чылі. Аллель *fumC* 133 апісаная ў MenA ў 6 краінах свету: на Кубе (1983, 1989), ў Германіі (2000, 2002), Расіі

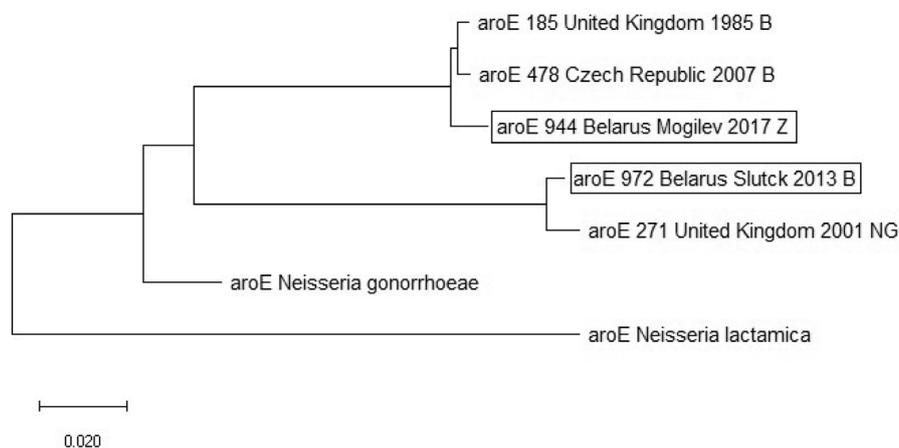


Рис. 3. Філогенетычныя сувязі новых аллелей *aroE* 944 і *aroE* 972 з найбліжэйшымі аллелямі *Neisseria* spp. (MEGA X 10.0.5)

Fig. 3. Phylogenetic analysis of the new *aroE* 944 and *aroE* 972 with the closest alleles of *Neisseria* spp. (MEGA X 10.0.5)

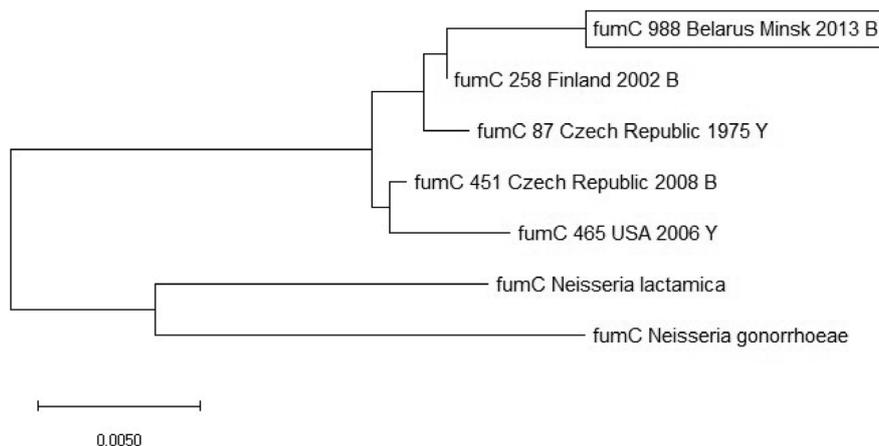


Рис. 4. Филогенетические связи новой аллели *fumC* 988 с наиболее близкими аллелями *Neisseria* spp. (MEGA X 10.0.5)

Fig. 4. Phylogenetic analysis of the new *fumC* 988 with the closest alleles of *Neisseria* spp. (MEGA X 10.0.5)

(2010, 2011), Чехии (1997, 2003), Польше (2005, 2012) и Беларуси (2013). Аллель *fumC* 988 (GC – 57 %) впервые выделена в г. Минске в 2013 г. из СМЖ 5-месячной девочки и имеет общего предшественника с «финской» аллелью *fumC* 258, скорость эволюции которой значительно ниже (рис. 4). Аллель *fumC* 988 и описанные ранее аллели *fumC* 2, *fumC* 17 и *fumC* 113 кодируют один вариант фумарат гидратазы.

Аллели *fumC* 3, *fumC* 7, *fumC* 9, *fumC* 17, *fumC* 19, *fumC* 37 и *fumC* 39, описанные ранее в Беларуси и составлявшие 65 % от аллелей исследованной популяции (13/20) [31], в анализируемый период были характерны также для 58 % популяции менингококка ($p = 0,599$). Описанные в 2006–2010 гг. аллели *fumC* 5, *fumC* 25, *fumC* 58, *fumC* 69, *fumC* 361 и «белорусская» *fumC* 541 в 2011–2018 гг. обнаружены не были [31].

Анализ фрагмента гена *gdh*. Ген *gdh* кодирует глюкозо-6-фосфат дегидрогеназу, являющуюся одним из ферментов пентозофосфатного пути и катализирующую окисление глюкозо-6-фосфата с одновременным восстановлением НАДФ⁺. При выполнении секвенирования фрагмента гена *gdh* у 60 изолятов *N. meningitidis* было идентифицировано 18 различных аллелей (GC – 52,2 %), как впервые выявленных (23,3 %), так и широко распространенных в мире, которые кодируют 4 типа глюкозо-6-фосфат дегидрогеназы. Наиболее часто встречающимися аллелями фрагмента гена *gdh* являлись *gdh* 560 (20 %), *gdh* 8 (15 %) и *gdh* 5 (13,3 %). Аллель *gdh* 560 (GC – 51,9 %) была впервые описана в Беларуси в 2006 г., в настоящее время в базе pubMLST зарегистрировано 19 изолятов, 89,5 % из которых распространены в Беларуси с 2006 по 2017 г. В 2017 г. аллель *gdh* 560 описана в Германии (ST-14163, CC-103), а в 2019 г. – в России (ST-9300, CC-103, Москва). Аллель *gdh* 8, впервые выявленная в Дании в 1940 г., на территории Беларуси циркулирует с 2006 г. Аллель *gdh* 5 с 1964 г. циркулирует в Нидерландах, а с 2007 г. – в Беларуси. Доля наиболее распространенных в Беларуси аллелей *gdh* 560, *gdh* 8 и *gdh* 5 среди всех описанных в pubMLST изолятов (по состоянию на 13.02.2020) составляет 88,9; 0,1 и 0,6 % соответственно. Аллель *gdh* 249, циркулирующая в Беларуси с 2006 г., впервые выявлена в России с 2000 г., а кроме того, отмечена на территории как соседних стран (в Польше – с 2003 г., в Украине – с 2007 г., в Литве – с 2011 г.), так и других стран Европы. В Беларуси аллель *gdh* 25 менингококков (2018) составила 4,2 % от всех выявленных в мире (1/24) и была отмечена также в Чехии (1992) – 19/25, Германии (2010) – 2/25, Польше (2011) и Швеции (2018) – по 1/25). Аллели *gdh* 985 (GC – 51,9 %) и *gdh* 1083 (GC – 51,7 %) впервые в мире описаны у изолятов менингококка, полученного из отделяемого носоглотки бактерионосителей в городах Слуцк (2013) и Жлобин (2014) соответственно и кодируют один тип глюкозо-6-фосфат дегидрогеназы. В сравнении с уже существующими аллелями новые «белорусские» аллели входят в разные кластеры филогенетического дерева, которое отличается ступенчатым характером дивергенции, т. е. сохранением промежуточных форм фрагмента гена *gdh* в процессе эволюции (рис. 5). Аллели *gdh* 1, *gdh* 5, *gdh* 8, *gdh* 9, *gdh* 10,

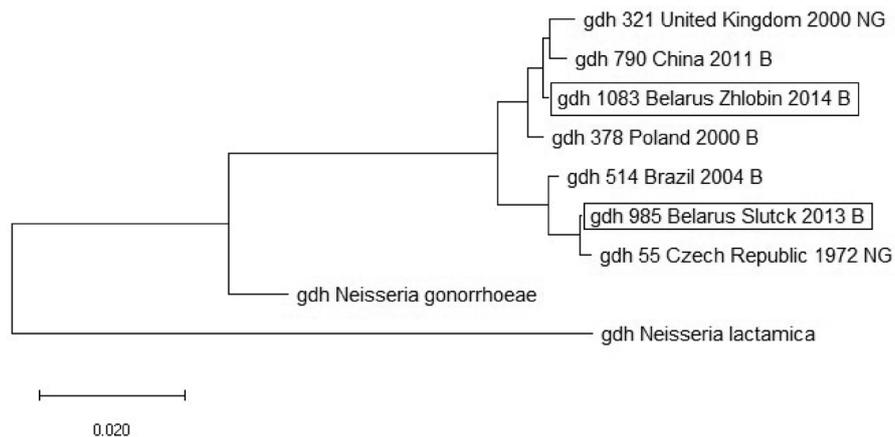


Рис. 5. Филогенетические связи новых аллелей *gdh* 985 и *gdh* 1083 с наиболее близкими аллелями *Neisseria* spp. (MEGA X 10.0.5)

Fig. 5. Phylogenetic analysis of the new *gdh* 985 and *gdh* 1083 with the closest alleles of *Neisseria* spp. (MEGA X 10.0.5)

gdh 17, *gdh* 21, *gdh* 249 и «белорусская» *gdh* 560, описанные ранее в Беларуси и составлявшие 85 % от аллелей исследованной популяции (17/20) [31], в анализируемый период были характерны также для 83 % популяции менингококка ($p = 0,862$). Обнаруженные в 2006–2010 гг. аллели *gdh* 13, *gdh* 18 и *gdh* 621 в наблюдаемый период не выявлены [31].

Анализ фрагмента гена *pdhC*. Ген *pdhC* кодирует субъединицу пируватдегидрогеназного комплекса – звена цикла трикарбоновых кислот. При выполнении секвенирования фрагмента гена *pdhC* у 60 изолятов *N. meningitidis* было идентифицировано 18 различных аллелей (GC – 55,6 %), кодирующих 11 вариантов субъединицы пируватдегидрогеназы. Наиболее часто встречающимися аллелями фрагмента гена *pdhC* являлись *pdhC* 18 (21,7 %), *pdhC* 6 (18,3 %) и *pdhC* 24 (11,7 %). Аллель *pdhC* 18, впервые описанная в Нидерландах в 1961 г., выявлена в Польше (1998), России (1999) и Беларуси (2006). Аллель *pdhC* 6 с 1960 г. циркулирует в Нидерландах, с 1998 г. – в России, с 2001 г. – в Польше, с 2010 г. – в Литве, с 2006 г. – в Беларуси. Аллель *pdhC* 24 была распространена в Нидерландах в 1960 г., а затем отмечена в России (1997), Польше (1998), Беларуси (2006), Украине (2007) и Литве (2012). Аллель *pdhC* 888 (GC 54,4 %) впервые в мире выявлена у изолята менингококка, полученного из СМЖ девочки в возрасте 1 год и 1 мес., в г. Барановичи отмечена в 2017 г. (рис. 6). Так же как и описанная в 1960-х годах в Нидерландах *pdhC* 22, *pdhC* 888 кодирует один вариант субъединицы пируватдегидрогеназы. Аллели *pdhC* 4, *pdhC* 6, *pdhC* 13, *pdhC* 18, *pdhC* 22 и *pdhC* 24, описанные ранее в Беларуси и составлявшие 80 % от аллелей

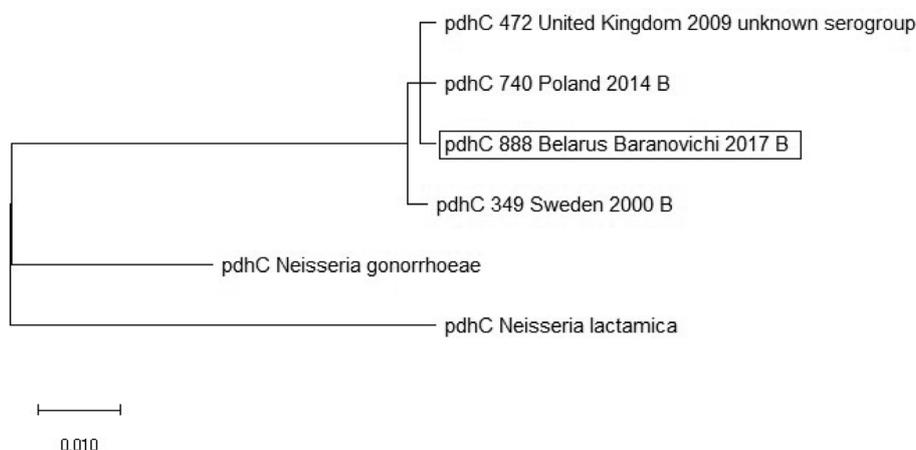


Рис. 6. Филогенетические связи новой аллели *pdhC* 888 с наиболее близкими аллелями *Neisseria* spp. (MEGA X 10.0.5)

Fig. 6. Phylogenetic analysis of the new *pdhC* 888 with the closest alleles of *Neisseria* spp. (MEGA X 10.0.5)

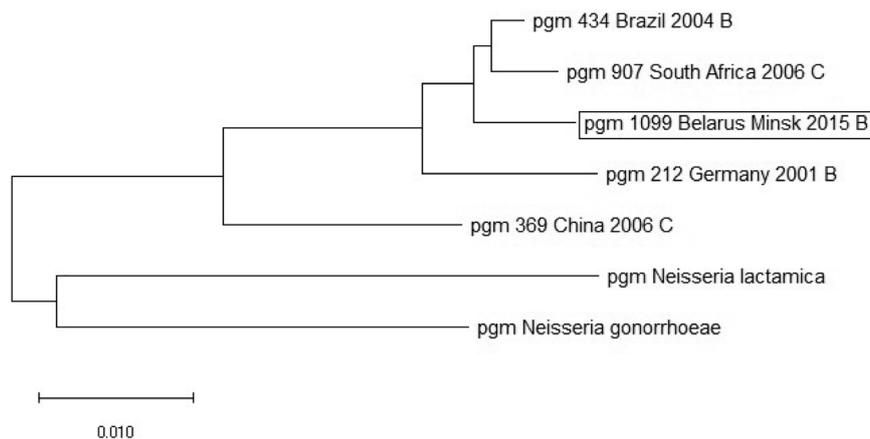


Рис. 7. Филогенетические связи новой аллели *pgm* 1099 с наиболее близкими аллелями *Neisseria* spp. (MEGA X 10.0.5)

Fig. 7. Phylogenetic analysis of the new *pgm* 1099 with the closest alleles of *Neisseria* spp. (MEGA X 10.0.5)

исследованной популяции (16/20) [31], в анализируемый период были характерны также для 68 % популяции менингококка ($p = 0,319$). Обнаруженные в 2006–2010 гг. аллели *pdhC* 11, *pdhC* 15, *pdhC* 22, *pdhC* 25 и *pdhC* 425 в наблюдаемый период не выявлены [31].

Анализ фрагмента гена *pgm*. Ген *pgm* кодирует фосфоглюкомутазу, которая осуществляет внутримолекулярный перенос фосфата при преобразовании глюкозо-1-фосфата в глюкозо-6-фосфат в процессе гликолиза [3]. При выполнении секвенирования фрагмента гена *pgm* у 60 изолятов *N. meningitidis* было идентифицировано 20 различных аллелей (GC – 54,2 %), кодирующих 13 вариантов фосфоглюкомутазы. Наиболее часто встречающимися аллелями фрагмента гена *pgm* являлись *pgm* 2 (25 %), *pgm* 8 (15 %) и *pgm* 9 (13,3 %). Аллель *pgm* 2, впервые описанная в Нидерландах в 1960 г., выявлена в России (1989), Польше (1997), Литве (2010), на территории Беларуси (2006 г). Аллель *pgm* 8 с 1960 г. циркулирует в Нидерландах, с 1995 г. – в России, с 1997 г. – в Польше, с 2010 г. – в Литве, с 2006 г. – в Беларуси. Аллель *pgm* 9 была распространена в Нидерландах в 1960 г., а позднее отмечена в России, Польше (1998), Беларуси (2006) и Литве (2010). Аллель *pgm* 1099 (GC – 54,4 %) впервые в мире описана у изолята менингококка, полученного из отделяемого носоглотки двухлетнего мальчика из г. Минска в 2015 г., и встречается только на территории Беларуси, однако ближайшие аллели выявлены в Европе, Азии, Африке и Южной Америке (рис. 7). Следует отметить, что в аминокислотных последовательностях, кодируемых описанными аллелями, отсутствует цистеин. Аллели *pgm* 2, *pgm* 6, *pgm* 8, *pgm* 9, *pgm* 16 и *pgm* 74, описанные ранее в Беларуси и составлявшие 55 % от аллелей исследованной популяции (11/20) [31], в анализируемый период были характерны также для 67 % популяции менингококка ($p = 0,348$). Обнаруженные в 2006–2010 гг. аллели *pgm* 17, *pgm* 22, *pgm* 54, *pgm* 131, *pgm* 244 и *pgm* 347 в настоящем исследовании не выявлены [31].

Определение SNPs во фрагментах ГДХ. Однонуклеотидный полиморфизм кодирующих участков бывает синонимическим (без изменения аминокислотной последовательности белка) и несинонимическим. Несинонимические полиморфизмы могут быть миссенс-мутациями, что приводит к кодированию другой аминокислоты, либо нонсенс-мутациями, в результате которых происходит преждевременная терминация трансляции. Среди фрагментов генов *abcZ*, *aroE*, *pdhC* и *pgm* отмечены сайты, в которых возможно наличие одного из трех нуклеотидов (табл. 3).

Все 75 SNPs в 17 аллелях фрагмента гена *abcZ* имели 7 вариантов: замена пиримидиновых нуклеотидов С и Т – 53,3 % от всех SNPs с доминированием С в 60,5 % полиморфизмов; замена пуриновых нуклеотидов А и Г – 29,3 % с доминированием Г в 31,2 % полиморфизмов; 5,3 % замен С и Г с преобладанием Г; по 2,7 % замен А на С и Г на Т с преобладанием пуринов; 1,3 % полиморфизма с преобладанием Т над А; 1,3 % полиморфизма с 3 нуклеотидами – С, Г и Т. Наибольшей вариабельностью с практически 50 %-ной вероятностью появления каждого нуклеотида характеризовались 13 положений: ^{27, 54, 57, 60, 243, 318, 330, 334, 342}С↔Т, ^{59, 64, 351}А↔Г, ¹⁸³С↔Г↔Т. Только 18 (24 %) из 75 SNPs приводили к заменам аминокислот в 10 (6,9 %) положениях из 144.

Таблица 3. Характеристика SNP и аминокислотных замен в ГДХ менингококка, встречавшихся на территории Беларуси в 2011–2018 гг.

Table 3. Characteristic of SNP and amino acid substitutions in the meningococcal house-keeping genes isolated in Belarus in 2011–2018

Ген, длина фрагмента, число аллелей/количество SNP, нуклеотидные замены	Белок, число видов, аминокислотные замены
<p>abcZ – 433 п. н. – 17 аллелей / 75 SNPs Транзиции – 86,7 % (65/75), P = 15 % 24, 28, 59, 64, 78, 82, 83, 87–89, 99, 102, 108, 120, 129, 153, 165, 174, 198, 252, 270, 297, 351 A↔G, 9, 27, 54, 57, 60, 63, 66, 81, 90, 95, 96, 111, 126, 144, 154, 189, 204, 222, 243, 246, 250, 261, 276, 279, 294, 315, 318, 330, 334, 342, 348, 367, 372, 387, 402, 411, 420, 423, 429, 432 C↔T Трансверсии – 12 % (9/75), Q = 2,1 % 93, 168, 291, 417 C↔G, 72, 255 G↔T, 79, 128 A↔C, 231 A↔T Прочие замены – 1,3 % (1/75) 183 C↔G↔T</p>	<p>ABC-переносчик – 144 АК 5 белков/10 замен 10E→K, 20H→R, 22S→G, 24, 31D→E, 27H→N, 28N→G, 30D→G→S, 32V→A, 43E→A</p>
<p>adk – 465 п. н. – 16 аллелей / 29 SNPs Транзиции – 86,2 % (25/29), P = 5,4 % 126, 135, 174, 411, 459, 462 A↔G, 18, 21, 30, 103, 108, 114, 127, 171, 177, 189, 213, 216, 261, 297, 366, 391, 396, 438, 456 C↔T Трансверсии – 13,8 % (4/29), Q = 0,9 % 144, 460 C↔G, 309 A↔C, 390 G↔T</p>	<p>Аденилатциклаза – 155 АК 2 белка/1 замена 154P→A</p>
<p>aroE – 490 п. н. – 17 аллелей / 125 SNPs Транзиции – 56 % (70/125), P = 14,3 % 11, 14, 15, 23, 49, 64, 76, 97, 114, 137, 153, 166, 177, 214, 247, 259, 261, 278, 299, 300, 329, 333, 340, 343, 352, 353, 363, 364, 366, 377, 383, 406, 415, 445, 455, 467, 490 A↔G, 12, 19, 24, 37, 39, 46, 58, 61, 62, 65, 68, 82, 121, 148, 154, 211, 253, 256, 257, 277, 280, 286, 295, 355, 373, 384, 385, 400, 424, 433, 436, 454, 466 C↔T Трансверсии – 39,2 % (49/125), Q = 10 % 22, 26, 32, 35, 42, 43, 57, 142, 269, 276, 281, 298, 334, 341, 345, 361, 365, 367, 369, 378, 379, 388, 394, 432, 434, 488 A↔C, 4, 70, 250, 285, 305–307, 344, 370, 421, 431 C↔G, 67, 103, 173, 212, 325, 332, 386, 418 G↔T, 2, 40, 289, 368 A↔T Прочие замены – 4,8 % (6/125) 31, 274, 283 C↔G↔T, 282, 380 A↔C↔G, 297 A↔G↔T</p>	<p>Шикимат дегидрогеназа – 163 АК 14 белков/43 замены 1,90,145I→L, 4A→T→V, 5N→G, 8T→V, 9, 11Q→K, 12N→H, 13I→T, 14A→E, 19T→N, 38E→G, 46, 93, 156I→V, 51H→R, 58, 129A→S, 59R→Q, 71V→L, 87S→N, 92A→D, 94S→P→N, 95P→R, 96E→D, 99L→Q→R, 100G→N→D, 102R→A, 110G→S, 111C→D→E, 114Q→K, 115E→P→A, 118, 152N→D, 121Q→R, 122S→Q, 123N→S, 126A→K, 127E→K→Q, 128V→T, 144A→H, 163M→L</p>
<p>fumC – 465 п. н. – 24 аллели / 37 SNPs Транзиции – 89,2 % (33/37), P = 7,1 % 9, 54, 186, 201, 255, 261, 326, 370, 387, 438, 441, 461 A↔G, 7, 33, 46, 55, 72, 78, 93, 114, 141, 165, 183, 219, 249, 297, 327, 339, 378, 435, 439, 447, 456 C↔T Трансверсии – 10,8 % (4/37), Q = 0,9 % 207, 330, 429 C↔G, 6 A↔C</p>	<p>Фумарат гидратаза – 155 АК 4 белка/3 замены 109R→H, 124I→V, 154E→G</p>
<p>gdh – 501 п. н. – 18 аллели / 30 SNPs Транзиции – 76,7 % (23/30), P = 4,6 % 60, 78, 141, 217, 290, 420, 427, 487 A↔G, 13, 24, 30, 46, 64, 69, 84, 102, 129, 132, 145, 189, 261, 432, 492 C↔T Трансверсии – 23,3 % (7/30), Q = 1,4 % 12, 15, 48, 390 G↔T, 66, 108 C↔G, 174 A↔C</p>	<p>Глюкозо-6-фосфат дегидрогеназа – 167 АК 4 белка/4 замены 97R→K, 130K→N, 143A→T, 163G→S</p>
<p>pdhC – 480 п. н. – 18 аллелей / 80 SNPs Транзиции – 75 % (60/80), P = 12,5 % 15, 115, 118, 153, 177, 205, 210, 211, 240, 244, 255, 294, 463, 475 A↔G, 12, 28, 42, 43, 66, 69, 78, 82, 90, 93, 102, 103, 130, 150, 165, 180, 190, 195, 201, 204, 212, 219, 238, 246, 261, 267, 270, 274, 291, 300, 315, 321, 330, 336, 342, 348, 360, 375, 384, 390, 393, 402, 405, 417, 426, 435 C↔T Трансверсии – 20 % (16/80), Q = 3,3 % 213, 232, 248, 271, 418 A↔C, 6, 30, 99, 114, 464, 474 C↔G, 237, 258, 297, 354, 432 G↔T Прочие замены – 5 % (4/80) 129, 453, 477 A↔G↔T, 456 A↔C↔T</p>	<p>Субъединица пируватдегидрогеназы – 160 АК 11 белков/12 замен 39, 69I→V, 40, 82A→T, 43E→D, 71A→T→V, 78N→H, 83A→E, 91Q→K→L, 140S→R, 155S→A, 159D→E→N</p>
<p>pgt – 450 п. н. – 20 аллелей / 67 SNPs Транзиции – 59,7 % (40/67), P = 8,9 % 3, 45, 69, 71, 82, 83, 108, 124, 151, 157, 159, 202, 213, 342, 359, 414, 421, 426, 442, 444 A↔G, 6, 24, 27, 43, 49, 78, 81, 96, 102, 117, 156, 183, 215, 219, 315, 384, 408, 420, 432, 447 C↔T Трансверсии – 31,3 % (21/67), Q = 4,7 % 1, 57, 105, 154, 192, 372, 393, 429 C↔G, 84, 140, 267, 386, 412, 423 A↔C, 51, 66, 123, 129, 369, 417 G↔T, 438 A↔T Прочие замены – 9 % (6/67) 33, 87, 93, 216 A↔C↔G, 193 A↔G↔T, 126 C↔G↔T</p>	<p>Фосфоглюкомутаза – 150 АК 13 белков/17 замен 1V→L, 24N→S, 28G→K, 42A→T, 47A→E, 51, 68, 148K→E, 52A→P, 53V→I, 65A→S→T, 72P→L, 120S→N, 129A→D, 138K→Q, 141N→D→E, 146K→E</p>

Примечание. P – частота транзиций (количество транзиций/общая длина фрагмента·100 %), %; Q – частота трансверсий (количество трансверсий/общая длина фрагмента·100 %), %.

В 16 аллелях фрагмента гена *adk* все 29 SNPs представлены 5 вариантами: замена пиримидиновых нуклеотидов С и Т – 65,5 % от всех SNPs с доминированием С в 65 % случаев; замена пуриновых нуклеотидов А и G – 20,7 % с доминированием А; 6,9 % замен С и G с преобладанием С; по 3,4 % замен А на С и G на Т с преобладанием пиримидинов. При этом только замены $^{460}G \rightarrow C$ и $^{462}A \rightarrow G$ привели к замене 154-й аминокислоты пролина на аланин в аллели *adk* 10. Таким образом, среди белорусской популяции менингококка отмечено наличие лишь двух вариантов аденилатциклазы с пролином в 154-м положении – 97 % (58/60) и аланином – 3 % (2/60).

Наибольшее количество SNPs (125) содержали 17 аллелей фрагмента гена *aroE*, 63,2 % которых приводили к аминокислотным заменам. SNPs представлены 9 вариантами: замена пуриновых нуклеотидов А и G – 29,6 %; замена пиримидиновых нуклеотидов С и Т – 26,4 % от всех SNPs; 20,8 % замен А и С; 8,8 % замен С и G; 6,4 % замен G и Т и 3,2 % замен А и Т с преобладанием Т в обоих вариантах; три варианта по три возможных нуклеотида в 4,8 % SNPs. Помимо наибольшего количества вариантов аллели фрагмента гена *aroE* характеризовались также наибольшей вариабельностью с практически 50 %-ной вероятностью появления каждого нуклеотида – 24 (19,2 %) положения: $^{76, 153, 177, 259, 261, 278, 333, 352, 406}A \leftrightarrow G$, $^{269, 276, 281, 298, 361}A \leftrightarrow C$, $^{257, 277, 280, 286}C \leftrightarrow T$, $^{305, 306, 307}C \leftrightarrow G$, $^{103, 332}G \leftrightarrow T$, $^{289}A \leftrightarrow T$. Из 163 аминокислот фрагмента шикимат дегидрогеназы аминокислотные замены отмечены в 43 (26,4 %) позициях.

В 24 аллелях фрагмента гена *fumC* 37 SNPs представлены 4 вариантами: замена пиримидиновых нуклеотидов С и Т – 56,8 % от всех SNPs; замена пуриновых нуклеотидов А и G – 32,4 % с доминированием G; 8,1 % замен С и G с преобладанием С; 2,7 % замен А на С. Наибольшей вариабельностью с практически 50 %-ной вероятностью появления каждого нуклеотида характеризовались 4 SNPs: $^{114, 249}C \leftrightarrow T$, $^{330}C \leftrightarrow G$ и $^{441}A \leftrightarrow G$. Только 4 (10,8 %) из 37 SNPs приводили к заменам аминокислот в 3 (1,9 %) положениях из 155.

Обнаруженные в 18 аллелях фрагмента гена *gdh* 30 SNPs представлены 5 вариантами: замена пиримидиновых нуклеотидов С и Т – 50 % от всех SNPs с доминированием С; замена пуриновых нуклеотидов А и G – 26,7 %; 13,3 % замен Т и G с преобладанием G; 6,7 % замен С и G; 3,3 % SNPs с А и С. Наибольшей вариабельностью с практически 50 %-ной вероятностью появления каждого нуклеотида характеризовались 8 (26,7 %) положений: $^{64, 69, 132}C \leftrightarrow T$, $^{60, 141, 290, 420}A \leftrightarrow G$, $^{66}C \leftrightarrow G$. Только 4 (13,3 %) из 30 SNPs приводили к заменам аминокислот в 4 (2,4 %) положениях из 167.

Выявленные 80 SNPs в 18 аллелях фрагмента гена *pdhC* представлены 7 вариантами: замена пиримидиновых нуклеотидов С и Т – 57,5 % от всех SNPs; замена пуриновых нуклеотидов А и G – 17,5 % с доминированием G (73,3 %); 7,5 % замен С и G; по 6,3 % замен $C \rightarrow A$ и $T \rightarrow G$; 5 % SNPs с тремя возможными нуклеотидами. Наибольшей вариабельностью с практически 50 %-ной вероятностью появления каждого нуклеотида характеризовались 8 (10 %) положений: $^{103, 212, 246, 270, 375}C \leftrightarrow T$, $^{210, 463}A \leftrightarrow G$, $^{464}C \leftrightarrow G$. Из 80 SNPs 17 (21,3 %) приводили к заменам аминокислот в 12 (7,5 %) положениях из 160.

Все 67 SNPs в 20 аллелях фрагмента гена *pgt* представлены 9 вариантами: замена пиримидиновых нуклеотидов С и Т – 29,9 % от всех SNPs; замена пуриновых нуклеотидов А и G – 29,9 %; 11,9 % замен С и G; по 9 % замен $A \rightarrow C$ и $G \leftrightarrow T$; 1,5 % замен А и Т; 9 % SNPs с тремя вариантами нуклеотидов. Наибольшей вариабельностью с практически 50 %-ной вероятностью появления каждого нуклеотида характеризовались 13 (19,4 %) положений: $^{81, 117, 156, 215}C \leftrightarrow T$, $^{82, 83, 108, 157, 159}A \leftrightarrow G$, $^{84}C \leftrightarrow A$, $^{51}T \leftrightarrow G$, $^{105, 154}C \leftrightarrow G$. Во фрагменте гена *pgt* 27 (40,3 %) из 67 SNPs приводили к заменам аминокислот в 17 (11,3 %) положениях из 150.

Большинство мутаций нуждается в энергетических затратах менингококка на проведение репарации. Все живые организмы содержат системы, поддерживающие целостность собственной ДНК и защищающие от внедрения чужеродной последовательности [32, 33]. Например, система репарации, представленная генами *mut*, проводит удаление поврежденных или неправильно спаренных оснований. Транзиция, т. е. замена пуринов – пуринов ($A \leftrightarrow G$) либо пиримидинов – пиримидинов ($C \leftrightarrow T$), энергетически более вероятна, чем трансверсия (пуринов \leftrightarrow пиримидинов), что связано со структурой пуриновых (2) и пиримидиновых (1) колец. Это подтверждают и результаты нашего исследования: доля транзиций варьировалась от 56 % во фрагменте гена *aroE* до 89,2 %

в *fumC*. Трансверсии относятся к сложным, или перекрестным, заменам, которые менее благоприятны, так как при замещении аминокислот оказывают большее влияние на уровне композиции и функции белка в сравнении с транзициями [28]. Так как анализируемые ГДХ крайне важны для обеспечения жизнедеятельности менингококка, бактерия стремится к сохранению аллелей, кодирующих белок, который способен максимально эффективно выполнять свою функцию. Менингококки-носители менее продуктивных аллелей, как правило, элиминируются из популяции. Системы репарации не способны различить, какой вариант последовательности является «диким» типом, а какой – мутацией, однако компоненты систем обладают определенной избирательностью. Так, белки MutL и MutS избирательно удаляют T в обнаруженных некоплементарностях G-T и C-T, а белок MutY удаляет A при спаривании A с G [34]. Таким образом может происходить закрепление точечной мутации, приводящее к однонуклеотидному полиморфизму. Только незначительное число мутаций фиксируется в геноме новых генераций микроорганизмов. Наиболее часто в качестве нейтральных выступают замены в некодирующих участках [28]. Нами показано, что нуклеотидный полиморфизм кодирующих участков ГДХ, как правило, синонимический. Наибольшей консервативностью характеризовались фрагменты генов *gdh* (6 % сайтов SNPs) и *adk* (6,2 %), что, вероятно, связано с высокой функциональной значимостью глюкозо-6-фосфат-дегидрогеназы в пентозофосфатном пути и аденилатциклазы в сигнальных путях [30]. Наибольшая вариабельность отмечена у шикимат дегидрогеназы, 63,2 % SNPs которой приводили к аминокислотным заменам, затрагивающим 26,4 % сайтов.

Выводы

1. Популяция менингококков, вызывающих различные формы инфекции, гетерогенна. У 60 изолятов менингококков, выявленных за период с 2011 по 2018 г., обнаружено 130 аллелей 7 фрагментов ГДХ, которые кодируют 53 варианта аминокислотных последовательностей. Из них 9 (6,9 %) аллелей выявлены и впервые в мире описаны только на территории Беларуси. Наибольшее разнообразие продуктов фрагментов ГДХ характерно для ферментов шикимат дегидрогеназы, фосфоглюкомутазы и пируватдегидрогеназы (14, 13 и 11 вариантов белка соответственно), а наименьшее – для аденилатциклазы (2 варианта).

2. Менингококки – носители впервые выявленных аллелей фрагментов ГДХ (*abcZ* 1016, *aroE* 944, *aroE* 972, *fumC* 988, *gdh* 560, *gdh* 985, *gdh* 1083, *pdhC* 888, *pgm* 1099), 8 (88,9 %) из которых циркулируют среди населения только на территории Беларуси, а менингококки – носители аллели *gdh* 560 распространились также на территории Германии (2017) и России (Москва, 2019).

3. Среди фрагментов ГДХ менингококков, циркулирующих в Беларуси, установлены доминирующие аллели: АВС-переносчика – *abcZ* 8 (25 %) и *abcZ* 2 (13,3 %); аденилатциклазы – *adk* 3 (20 %), *adk* 5 (13,3 %) и *adk* 6 (10 %); шикимат дегидрогеназы – *aroE* 6 (28,3 %), *aroE* 4 (16,7 %) и *aroE* 9 (11,7 %); фумарат гидратазы – *fumC* 17 (30 %), *fumC* 3 (10 %) и *fumC* 13 (8,3 %); глюкозо-6-фосфат дегидрогеназы – *gdh* 560 (20 %), *gdh* 8 (15 %) и *gdh* 5 (13,3 %); субъединицы пируватдегидрогеназы – *pdhC* 18 (21,7 %), *pdhC* 6 (18,3 %) и *pdhC* 24 (11,7 %); фосфоглюкомутазы – *pgm* 2 (25 %), *pgm* 8 (15 %) и *pgm* 9 (13,3 %).

4. Механизмы молекулярной эволюции популяции менингококков характеризуются наличием сайтов полиморфизма в аллелях фрагментов ГДХ менингококка: АВС-переносчика – 75 (17,3 % от всех нуклеотидов фрагмента гена); аденилатциклазы – 29 (6,2 %); шикимат дегидрогеназы – 125 (25,5 %); фумарат гидратазы – 37 (8 %); глюкозо-6-фосфат дегидрогеназы – 30 (6 %); субъединицы пируватдегидрогеназы – 80 (16,7 %); фосфоглюкомутазы – 67 (14,9 %). Транзиции преобладают во всех 7 фрагментах ГДХ и составляют от 56 % в *aroE* (70 SNPs, 14,3 % от всех нуклеотидов фрагмента гена) до 89,2 % в *fumC* (33 SNPs, 7,1 %). Встречаемость трансверсий во всех фрагментах ГДХ ниже – от 10,8 % в *fumC* (4 SNPs, 0,9 %) до 39,2 % в *aroE* (49 SNPs, 10 %). Наличие сайтов с вероятностью появления одного из трех нуклеотидов установлено только среди фрагментов ГДХ *pgm* (6 SNPs, 1,3 %), *aroE* (6 SNPs, 1,2 %), *pdhC* (4 SNPs, 0,8 %) и *abcZ* (1 SNP, 0,2 %).

5. Установлена ассоциация SNPs и определен характер аминокислотных замен в продуктах фрагментов ГДХ. Мутации в основном носили синонимичный характер и лишь 25,7 % SNPs

в среднем были несинонимичными и сопровождалась заменами аминокислот: 24 % SNPs у *abcZ* привели к формированию 5 вариантов ABC-переносчика; 6,9 % SNPs *adk* – 2 вариантов аденилатциклазы; 63,2 % SNPs *aroE* – 14 вариантов шикимат дегидрогеназы; 10,8 % SNPs *fumC* – 4 вариантов фумарат гидратазы; 13,3 % SNPs *gdh* – 4 вариантов глюкозо-6-фосфат дегидрогеназы; 21,3 % SNPs *pdhC* – 11 вариантов субъединицы пируватдегидрогеназы, 40,3 % SNPs *pgm* – 13 вариантов фосфоглюкомутазы. Отмечено отсутствие цистеина и метионина в анализируемых фрагментах ABC-переносчика, триптофана в аденилатциклазе и цистеина в фосфоглюкомутазе. Фенотипическая вариабельность ферментов, участвующих в ключевых метаболических путях, может приводить к появлению более вирулентных и гиперинвазивных клонов менингококка.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список использованных источников

1. Variability and diversity of nasopharyngeal microbiota in children: a metagenomic analysis / D. Bogaert [et al.] // PLoS ONE. – 2011. – Vol. 6, N 2. – P. e17035. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0017035>
2. Sáez Nieto, J. A. Multicolonization of human nasopharynx due to *Neisseria* spp. / J. A. Sáez Nieto, C. Marcos, A. Vindel // Int. Microbiol. – 1998. – Vol. 1, N 1. – P. 59–63.
3. Metabolism and virulence in *Neisseria meningitidis* / C. Schoen [et al.] // Front. Cell. Infect. Microbiol. – 2014. – Vol. 4. – Art. 114. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2014.00114>
4. Extensive genomic variation within clonal complexes of *Neisseria meningitidis* / W. Hao [et al.] // Genome Biol. Evol. – 2011. – Vol. 3. – P. 1406–1418. <https://doi.org/10.1093/gbe/evr119>
5. Nasal inoculation of the commensal *Neisseria lactamica* inhibits carriage of *Neisseria meningitidis* by young adults: a controlled human infection study / A. M. Deasy [et al.] // Clin. Infect. Dis. – 2015. – Vol. 60, N 10. – P. 1512–1520. <https://doi.org/10.1093/cid/civ098>
6. Bratcher, H. B. Evolutionary and genomic insights into meningococcal biology / H. B. Bratcher, J. S. Bennett, M. C. Maiden // Future Microbiol. – 2012. – Vol. 7, N 7. – P. 873–885. <https://doi.org/10.2217/fmb.12.62>
7. Титов, Л. П. Классификация, номенклатура и эволюция значимых для медицины бактерий / Л. П. Титов // Мед. журн. – 2006. – № 1. – С. 13–18.
8. Tzeng, Y. L. Antimicrobial peptide resistance in *Neisseria meningitidis* / Y. L. Tzeng, D. S. Stephens // Biochim. Biophys. Acta. – 2015. – Vol. 1848, N 11. – P. 3026–3031. <https://doi.org/10.1016/j.bbame.2015.05.006>
9. Никифоров, В. А. Актуальные и нерешенные проблемы менингококковой инфекции на современном этапе / В. А. Никифоров, В. В. Кичикова, Е. И. Ефимов // Мед. альманах. – 2011. – № 4. – С. 94–99.
10. Абрамцева, М. В. Менингококковая инфекция. Современные представления о возбудителе, эпидемиологии, патогенезе и диагностике. Сообщение 1 / М. В. Абрамцева, А. П. Тарасов, Т. И. Немировская // Биопрепараты. Профилактика, диагностика, лечение. – 2014. – № 3 (51). – С. 4–10.
11. Титов, Л. П. Менингококковая инфекция: современное состояние проблемы / Л. П. Титов // Здравоохранение. – 2010. – № 12. – С. 15–23.
12. Vigué, L. The comparative population genetics of *Neisseria meningitidis* and *Neisseria gonorrhoeae* / L. Vigué, A. Eyre-Walker // PeerJ. – 2019. – Vol. 7. – P. e7216. <https://doi.org/10.7717/peerj.7216>
13. Whole genome sequencing reveals within-host genetic changes in paired meningococcal carriage isolates from Ethiopia / G. K. Barnes [et al.] // BMC Genomics. – 2017. – Vol. 18, N 1. – P. 407–421. <https://doi.org/10.1186/s12864-017-3806-3>
14. Genomic epidemiology of hypervirulent serogroup W, ST-11 *Neisseria meningitidis* / M. M. Mustapha [et al.] // EBioMedicine. – 2015. – Vol. 2, N 10. – P. 1447–1455. <https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2015.09.007>
15. Tibayrenc, M. How clonal are *Neisseria* species? The epidemic clonality model revisited / M. Tibayrenc, F. J. Ayala // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 2015. – Vol. 112, N 29. – P. 8909–8913. <https://doi.org/10.1073/pnas.1502900112>
16. Genome Assembly and Annotation report [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/genomes/172>. – Дата доступа: 18.02.2020.
17. *Neisseria meningitidis* is structured in clades associated with restriction modification systems that modulate homologous recombination / S. Budroni [et al.] // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 2011. – Vol. 108, N 11. – P. 4494–4499. <https://doi.org/10.1073/pnas.1019751108>
18. Ryall, B. Culture history and population heterogeneity as determinants of bacterial adaptation: the adaptomics of a single environmental transition / B. Ryall, G. Eydallin, T. Ferenci // Microbiol. Mol. Biol. Rev. – 2012. – Vol. 76, N 3. – P. 597–625. <https://doi.org/10.1128/MMBR.05028-11>
19. Spontaneous point mutations in the capsule synthesis locus leading to structural and functional changes of the capsule in serogroup A meningococcal populations / E. Ispasanie [et al.] // Virulence. – 2018. – Vol. 9, N 1. – P. 1138–1149. <https://doi.org/10.1080/21505594.2018.1467710>
20. Li, X. Homologous recombination in DNA repair and DNA damage tolerance / X. Li, W.-D. Heyer // Cell Res. – 2008. – Vol. 18, N 1. – P. 99–113. <https://doi.org/10.1038/cr.2008.1>
21. Хархаль, А. Н. Иммунная система прокариот: молекулярные механизмы, применение в микробиологии / А. Н. Хархаль, Л. П. Титов // Вес. Нац. акад. наук Беларусі. Сер. мед. навук. – 2017. – № 3. – С. 121–128.
22. Maharjan, R. Mutational signatures indicative of environmental stress in bacteria / R. Maharjan, T. Ferenci // Mol. Biol. Evol. – 2015. – Vol. 32, N 2. – P. 380–391. <https://doi.org/10.1093/molbev/msu306>

23. Laboratory methods for the diagnosis of meningitis caused by *Neisseria meningitidis*, *Streptococcus pneumoniae*, and *Haemophilus influenzae*. – Pub. 2. – Geneva : WHO Press, 2011. – 311 p.
24. Jolley, K. A. Open-access bacterial population genomics: BIGSdb software, the PubMLST. org website and their applications / K. A. Jolley, J. E. Bray, M. C. Maiden // Wellcome Open Res. – 2018. – Vol. 3. – Art. 124. <https://doi.org/10.12688/wellcomeopenres.14826.1>
25. MEGA X: molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms / S. Kumar [et al.] // Mol. Biol. Evol. – 2018. – Vol. 35, N 6. – P. 1547–1549. <https://doi.org/10.1093/molbev/msy096>
26. Бутвиловский, А. В. Изучение состава белков и нуклеиновых кислот / А. В. Бутвиловский, Е. В. Барковский, В. Э. Бутвиловский // Мед. журн. – 2009. – № 1. – С. 32–36.
27. Глазкова, С. Э. Молекулярно-генетический анализ хаускипинг генов *adk* и *aroE* штаммов *Neisseria meningitidis*, выделенных от больных менингитом / С. Э. Глазкова, Е. С. Носова, Л. П. Титов // Мед. журн. – 2007. – № 4. – С. 47–50.
28. Титов, Л. П. Геномико-протеомические основы эволюции и молекулярной эпидемиологии вирусов / Л. П. Титов, В. И. Вотяков // Вес. Нац. акад. наук Беларусі. Сер. мед. навук. – 2011. – № 1. – С. 109–124.
29. Чиркин, А. А. Биохимия / А. А. Чиркин, Е. О. Данченко. – М. : Мед. литература, 2010. – 624 с.
30. Аллельное разнообразие и филогения генов домашнего хозяйства изолятов *N. meningitidis*, циркулирующих на территории Республики Беларусь / С. Э. Глазкова [и др.] // Вес. Нац. акад. наук Беларусі. Сер. мед. навук. – 2011. – № 3. – С. 99–105.
31. Evolutionary epidemiology of *Neisseria meningitidis* strains in Belarus compared to other European countries / L. P. Titov [et al.] // Acta Microbiol. Immunol. Hung. – 2013. – Vol. 60, N 4. – P. 397–410. <https://doi.org/10.1556/AMicr.60.2013.4.2>
32. Specificity of the DNA mismatch repair system (MMR) and mutagenesis bias in bacteria / H. Long [et al.] // Mol. Biol. Evol. – 2018. – Vol. 35, N 10. – P. 2414–2421. <https://doi.org/10.1093/molbev/msy134>
33. DNA repair profiles of disease-associated isolates of *Neisseria meningitidis* / T. Davidsen [et al.] // FEMS Immunol. Med. Microbiol. – 2007. – Vol. 49, N 2. – P. 243–251. <https://doi.org/10.1111/j.1574-695x.2006.00195.x>
34. Кребс, Дж. Гены по Льюису / Дж. Кребс, Э. Голдштейн, С. Килпатрик ; пер. с англ. Д. В. Ребрикова, Н. Ю. Усман. – 2-е изд., испр. и доп. – М. : Лаб. знаний, 2017. – 919 с.

References

1. Bogaert D., Keijsers B., Huse S., Rossen J., Veenhoven R., van Gils E., Bruin J., Montijn R., Bonten M., Sanders E. Variability and diversity of nasopharyngeal microbiota in children: a metagenomic analysis. *PLoS ONE*, 2011, vol. 6, no. 2, p. e17035. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0017035>
2. Sáez-Nieto J. A., Marcos C., Vindel A. Multicolonization of human nasopharynx due to *Neisseria spp.* *International Microbiology*, 1998, vol. 1, no. 1, pp. 59–63.
3. Schoen C., Kischkies L., Elias J., Ampattu B. J. Metabolism and virulence in *Neisseria meningitidis*. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 2014, vol. 4, art. 114. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2014.00114>
4. Hao W., Ma J. H., Warren K., Tsang R. S., Low D. E., Jamieson F. B., Alexander D. C. Extensive genomic variation within clonal complexes of *Neisseria meningitidis*. *Genome Biology and Evolution*, 2011, vol. 3, pp. 1406–1418. <https://doi.org/10.1093/gbe/evr119>
5. Deasy A. M., Guccione E., Dale A. P., Andrews N., Evans C. M., Bennett J. S., Bratcher H. B., Maiden M. C., Gorringer A. R., Read R. C. Nasal inoculation of the commensal *Neisseria lactamica* inhibits carriage of *Neisseria meningitidis* by young adults: a controlled human infection study. *Clinical Infectious Diseases*, 2015, vol. 60, no. 10, pp. 1512–1520. <https://doi.org/10.1093/cid/civ098>
6. Bratcher H. B., Bennett J. S., Maiden M. C. Evolutionary and genomic insights into meningococcal biology. *Future Microbiology*, 2012, vol. 7, no. 7, pp. 873–885. <https://doi.org/10.2217/fmb.12.62>
7. Titov L. P., Classification, nomenclature and evolution of bacteria significant for medicine. *Meditsinskii zhurnal* [Medical journal], 2006, no. 1, pp. 13–18 (in Russian).
8. Tzeng Y. L., Stephens D. S. Antimicrobial peptide resistance in *Neisseria meningitidis*. *Biochimica et Biophysica Acta*, 2015, vol. 1848, no. 11, pp. 3026–3031. <https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2015.05.006>
9. Nikiforov V. A., Kichikova V. V., Efimov E. I. Actual and unsolved problems of meningococcal infection at the present stage. *Meditsinskii al'manakh* [Medical almanac], 2011, no. 4, pp. 94–99 (in Russian).
10. Abramtseva M. V., Tarasov A. P., Nemirovskaya T. I. Meningococcal infection. Modern ideas about the pathogen, epidemiology, pathogenesis and diagnosis. Message 1. *Biopreparaty. Profilaktika, diagnostika, lechenie* [Biological products. Prevention, diagnosis, treatment], 2014, no. 3 (51), pp. 4–10 (in Russian).
11. Titov L. P. Meningococcal infection: current status of the problem. *Zdravookhranenie* [Healthcare], 2010, no. 12, pp. 15–23 (in Russian).
12. Vigué L., Eyre-Walker A. The comparative population genetics of *Neisseria meningitidis* and *Neisseria gonorrhoeae*. *PeerJ*, 2019, vol. 7, p. e7216. <https://doi.org/10.7717/peerj.7216>
13. Bärnes G. K., Brynildsrud O. B., Børud B., Workalemahu B., Kristiansen P. A., Beyene D., Aseffa A., Caugant D. A. Whole genome sequencing reveals within-host genetic changes in paired meningococcal carriage isolates from Ethiopia. *BMC Genomics*, 2017, vol. 18, no. 1, pp. 407–421. <https://doi.org/10.1186/s12864-017-3806-3>
14. Mustapha M. M., Marsh J. W., Krauland M. G., Fernandez J. O., de Lemos A. P. S., Dunning Hotopp J. C. [et al.]. Genomic epidemiology of hypervirulent serogroup W, ST-11 *Neisseria meningitidis*. *EBioMedicine*, 2015, vol. 2, no. 10, pp. 1447–1455. <https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2015.09.007>

15. Tibayrenc M., Ayala F. J. How clonal are *Neisseria species*? The epidemic clonality model revisited. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2015, vol. 112, no. 29, pp. 8909–8913. <https://doi.org/10.1073/pnas.1502900112>
16. *Genome Assembly and Annotation report*. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/genomes/172> (accessed 18.02.2020).
17. Budroni S., Siena E., Dunning Hotopp J. C., Seib K. L., Serruto D., Nofroni C. [et al.]. *Neisseria meningitidis* is structured in clades associated with restriction modification systems that modulate homologous recombination. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2011, vol. 108, no. 11, pp. 4494–4499. <https://doi.org/10.1073/pnas.1019751108>
18. Ryall B., Eydallin G., Ferenci T. Culture history and population heterogeneity as determinants of bacterial adaptation: the adaptomics of a single environmental transition. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 2012, vol. 76, no. 3, pp. 597–625. <https://doi.org/10.1128/MMBR.05028-11>
19. Ispasanie E., Micoli F., Lamelas A., Keller D., Berti F., De Riccio R., Di Benedetto R., Rondini S., Pluschke G. Spontaneous point mutations in the capsule synthesis locus leading to structural and functional changes of the capsule in serogroup A meningococcal populations. *Virulence*, 2018, vol. 9, no. 1, pp. 1138–1149. <https://doi.org/10.1080/21505594.2018.1467710>
20. Li X., Heyer W. D. Homologous recombination in DNA repair and DNA damage tolerance. *Cell Research*, 2008, vol. 18, no. 1, pp. 99–113. <https://doi.org/10.1038/cr.2008.1>
21. Kharkhal' A. N., Titov L. P. Procariotic immune system: molecular mechanisms, application in microbiology. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya medytsynskikh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2017, no. 3, pp. 121–128 (in Russian).
22. Maharjan R., Ferenci T. Mutational signatures indicative of environmental stress in bacteria. *Molecular Biology and Evolution*, 2015, vol. 32, no. 2, pp. 380–391. <https://doi.org/10.1093/molbev/msu306>
23. *Laboratory methods for the diagnosis of meningitis caused by Neisseria meningitidis, Streptococcus pneumoniae, and Haemophilus influenzae*. Geneva, WHO Press Publ., 2011. 311 p.
24. Jolley K. A., Bray J. E., Maiden M. C. J. Open-access bacterial population genomics: BIGSdb software, the PubMLST.org website and their applications. *Wellcome Open Research*, 2018, vol. 3, frt. 124. <https://doi.org/10.12688/wellcomeopenres.14826.1>
25. Kumar S., Stecher G., Li M., Knyaz C., Tamura K. MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis across Computing Platforms. *Molecular Biology and Evolution*, 2018, vol. 35, no. 6, pp. 1547–1549. <https://doi.org/10.1093/molbev/msy096>
26. Butvilovskii A. V., Barkovskii E. V., Butvilovskii V. E. The study of the composition of proteins and nucleic acids. *Meditinskii zhurnal* [Medical journal], 2009, no. 1, pp. 32–36 (in Russian).
27. Glazkova S. E., Nosova E. S., Titov L. P. Molecular genetic analysis of housekeeping genes *adk* and *aroE* of *Neisseria meningitidis* strains isolated from patients with meningitis. *Meditinskii zhurnal* [Medical journal], 2007, no. 4, pp. 47–50 (in Russian).
28. Titov L. P., Votyakov V. I. Genomic-proteomic foundations of viral evolution and molecular epidemiology. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya medytsynskikh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2011, no. 1, pp. 109–124 (in Russian).
29. Chirkin A. A., Danchenko E. O. *Biochemistry*. Moscow, Meditsinskaya literatura Publ., 2010. 624 p. (in Russian).
30. Glazkova S. E., Titov L. P., Sinyuk K. V., Tulin S., Unemo M. *Allelic diversity and phylogeny of housekeeping genes of N. meningitidis isolates circulating in the Republic of Belarus*. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya medytsynskikh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2011, no. 3, pp. 99–105 (in Russian).
31. Titov L. P., Siniuk K. V., Wollenberg K. K., Unemo M., Hedberg S. T., Glazkova S. E. [et al.]. Evolutionary epidemiology of *Neisseria meningitidis* strains in Belarus compared to other European countries. *Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica*, 2013, vol. 60, no. 4, pp. 397–410. <https://doi.org/10.1556/AMicr.60.2013.4.2>
32. Long H., Miller S. F., Williams E., Lynch M. Specificity of the DNA Mismatch Repair System (MMR) and mutagenesis bias in bacteria. *Molecular Biology and Evolution*, 2018, vol. 35, no. 10, pp. 2414–2421. <https://doi.org/10.1093/molbev/msy134>
33. Davidsen T., Amundsen E. K., Rødland E. A., Tønjum T. DNA repair profiles of disease-associated isolates of *Neisseria meningitidis*. *FEMS Immunology and Medical Microbiology*, 2007, vol. 49, no. 2, pp. 243–251. <https://doi.org/10.1111/j.1574-695x.2006.00195.x>
34. Krebs J. E., Goldstein E. S., Kilpatrick S. T. *Lewin's genes*. Burlington, Jones & Bartlett Learning, 2014. 940 p. (Russ. ed.: Krebs Dzh., Goldshtein E., Kilpatrik S. *Geny po L'yuinu*. 2nd ed. Moscow, Laboratoriya znanii Publ., 2017. 919 p.).

Информация об авторах

Хархаль Анна Николаевна – аспирант. Республиканский научно-практический центр эпидемиологии и микробиологии (ул. Филимонова, 23, 220114, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: anna-madlen69@yandex.ru. <https://orcid.org/0000-0003-4738-4681>.

Титов Леонид Петрович – член-корреспондент, д-р мед. наук, профессор, заведующий лабораторией. Республиканский научно-практический центр эпидемио-

Information about the authors

Hanna N. Kharkhal – Postgraduate student. Republican Scientific and Practical Center for Epidemiology and Microbiology (23, Filimonov Str., 220114, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: anna-madlen69@yandex.ru. <https://orcid.org/0000-0003-4738-4681>.

Leonid P. Titov – Corresponding Member, D. Sc. (Med.), Professor, Head of the Laboratory. Republican Scientific and Practical Center for Epidemiology and Microbiology (23,

логии и микробиологии (ул. Филимонова, 23, 220114, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: leonidtitov@tut.by

Янович Ольга Олеговна – канд. биол. наук, вед. науч. сотрудник. Республиканский научно-практический центр эпидемиологии и микробиологии (ул. Филимонова, 23, 220114, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: oyanov74@mail.ru

Filimonov Str., 220114, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: leonidtitov@tut.by

Olga O. Yanovich – Ph. D. (Biol.), Leading Researcher. Republican Scientific and Practical Center for Epidemiology and Microbiology (23, Filimonov Str., 220114, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: oyanov74@mail.ru

ISSN 1814-6023 (Print)

ISSN 2524-2350 (Online)

УДК 617.7-006.81:616-089.87(476)

<https://doi.org/10.29235/1814-6023-2020-17-3-320-328>

Поступила в редакцию 04.03.2020

Received 04.03.2020

Л. В. Науменко¹, С. А. Красный¹, Е. П. Жилиева¹, А. А. Евмененко¹, Г. А. Сущеня²

¹Республиканский научно-практический центр онкологии и медицинской радиологии
им. Н. Н. Александрова, Минск, Республика Беларусь

²Минская областная детская клиническая больница, агр. Лесной, Республика Беларусь

ЭНУКЛЕАЦИЯ ИЛИ ОРГАНОСОХРАНЯЮЩАЯ МЕТОДИКА ЛЕЧЕНИЯ МЕЛАНОМЫ СОСУДИСТОЙ ОБОЛОЧКИ ГЛАЗА?

Аннотация. Меланома сосудистой оболочки глаза, или меланома хориоидеи, относится к злокачественным опухолям. Выбор метода лечения зависит от размеров опухоли и ее локализации, состояния оболочек глаза, материально-технической базы клиники, желания самого пациента.

Цель исследования – оценить эффективность лечения пациентов с меланомой сосудистой оболочки глаза.

Изучены данные Белорусского канцер-регистра, истории болезни пациентов с диагнозом меланомы сосудистой оболочки глаза (С69.3 по МКБ-10) за период с 1999 по 2018 г. Оценка заболеваемости проводилась на основе анализа абсолютного числа заболевших, грубых интенсивных показателей, рассчитанных на 1 000 000 населения. Для оценки выживаемости использовали показатель скорректированной кумулятивной 5-летней выживаемости. Уровень значимости определяли с помощью критерия χ^2 .

По результатам исследования, показатели заболеваемости за 20-летний период колебались и в среднем составили 0,9 ‰. Энуклеация проведена 724 пациентам: с синхронным и метакронным раком – 101 (13,9 %), с единственной опухолью меланомы хориоидеи – 623. Количество энуклеаций уменьшилось в 1,8 раза. Для оценки выживаемости были сформированы группы пациентов с опухолями больших размеров после проведенной энуклеации и комбинированного лечения. После энуклеации прогрессирование заболевания зарегистрировано у 159 (25,5 %) из 623 пациентов: на первом году – у 25 (15,7 %), на втором – у 50 (31,5 %), на четвертом году и более – у 84 (52,8 %). В группе с комбинированным лечением у 10 (17,2 %) из 58 пациентов зарегистрировано прогрессирование заболевания: на первом году – у 1 (10,0 %), на втором – у 6 (60,0 %), на четвертом году и более – у 3 (30,0 %). Показатель выживаемости после проведенного органосохраняющего лечения был незначительно выше и увеличился к 5-му году наблюдения, хотя данные статистически не значимы ($p > 0,5$).

В настоящее время энуклеация играет не основную роль в выборе метода лечения пациентов с клинически установленным диагнозом меланомы сосудистой оболочки глаза. Показатель кумулятивной скорректированной 5-летней выживаемости пациентов после проведенного органосохраняющего лечения составил $85,7 \pm 5,1$ %, после проведенной энуклеации – $67,2 \pm 2,2$ %, данные статистически не значимы ($p > 0,5$). Перспективным направлением в лечении пациентов с меланомой хориоидеи является усовершенствование органосохраняющих методик лечения.

Ключевые слова: меланома хориоидеи, органосохраняющее лечение, энуклеация, выживаемость

Для цитирования: Энуклеация или органосохраняющая методика лечения меланомы сосудистой оболочки глаза? / Л. В. Науменко [и др.] // Вес. Нац. акад. наук Беларуси. Сер. мед. наук. – 2020. – Т. 17, № 3. – С. 320–328. <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2020-17-3-320-328>

Larisa V. Naumenko¹, Sergey A. Krasny¹, Katsiaryna P. Zhyliaeva¹, Alesya A. Evmenenko¹,
Galina A. Suschenya²

¹N. N. Alexandrov National Cancer Centre of Belarus, Minsk, Republic of Belarus

²Minsk Regional Children's Clinical Hospital, Lesnoy, Republic of Belarus

IS IT ENUCLEATION OR ORGAN-SPARING TECHNIQUES FOR CHOROID MELANOMA TREATMENT?

Abstract. Choroid melanoma belongs to malignant tumors. The choice of treatment modality depends on a tumor size and site, ocular tunics conditions, clinic logistics, and the patient's will.

The aim of the study was to evaluate the effectiveness of treatment of patients with choroid melanoma.

The data of the Belarusian Cancer Registry and the case histories of patients with choroid melanoma (C69.3, ICD-10) over the period of 1999–2018 were studied. The incidence rates were evaluated on the basis of the analysis of the absolute number of persons taken ill with the disease, crude intensive rates calculated per 1,000,000 of population. To calculate the survival, the disease-specific cumulative 5-year survival rate was used. Significance evaluation was made applying the chi-square test.

The incidence rates varied over the 20-year period and were 0.9 ‰ on the average. Enucleation was performed in 724 patients, 13.9 % (101 patients) being registered with synchronous and metachronous cancer. Patients with a sole tumor

of choroid melanoma were analyzed. The amount of enucleations performed decreased by a factor of 1.8. To evaluate the survival, the groups of patients with large tumors were formed after enucleation and combination treatment was carried out. Of 623 patients subjected to enucleation, disease progression was established in 159 (25.5 %). Of 159 patients, the onset of disease progression occurred in 25 (15.7 %) in the 1st year, in 50 (31.5 %) in the 2nd year, and in 84 (52.8 %) in the 4th year and later. In the combination treatment group, consisting of 58 patients, disease progression was ascertained in 10 (17.2 %): in the 1st year – in 1 (10.0 %), in the 2nd year – in 6 (60.0 %), and in the 4th and later – in 3 (30.0 %). The survival rate after the organ-sparing treatment is insignificantly higher and increases to the 5th year of the follow-up, although the data are statistically insignificant ($p > 0.5$).

At present, enucleation does not play the leading role in the choice of treatment modality for patients with clinical diagnosis of choroid melanoma. The disease-specific cumulative 5-year survival rate in patients receiving organ-sparing treatment was 85.7 ± 5.1 %, and in those subjected to enucleation – 67.2 ± 2.2 %, the data being statistically insignificant ($p > 0.5$). The promising trend in treating choroid melanoma patients is the development of organ-sparing treatment techniques.

Keywords: choroid melanoma, organ-sparing treatment, enucleation, survival

For citation: Naumenko L. V., Krasny S. A., Zhylyayeva E. P., Evmenenko A. A., Suschenya G. A. Is it enucleation or organ-sparing techniques for choroid melanoma treatment? *Vesti Natsyonal'nai akademii nauk Belarusi. Seriya meditsinskikh nauk* = *Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2020, vol. 17, no. 3, pp. 320–328 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2020-17-3-320-328>

Введение. Меланома сосудистой оболочки глаза, или меланома хориоидеи (МХ), относится к злокачественным опухолям. Уровень заболеваемости МХ составляет от 0,2 ‰ в странах Азии до 1,0 ‰ в скандинавских странах [1]. В Соединенных Штатах Америки и Европе средний возраст заболевших МХ составляет 59–62 года [2–4], в азиатских странах – 45 (Китай), 46 (Индия), 51 (Тайвань), 54 (Корея) и 55 (Япония) лет [5–10]. У латиноамериканцев средний возраст – 52 года, у афроамериканцев – 54 года [11, 12]. В Республике Беларусь, по данным Белорусского канцер-регистра, рост числа случаев заболевания начинается с 35 лет, достигая максимума в возрасте 65–69 лет, средний возраст заболевших – 58 лет. Показатель заболеваемости на 1 000 000 населения составил 1,4 случая в 1997 г. и 6,3 в 2016 г. [13].

Лечение МХ направлено на сохранение глаза и зрительных функций, снижение риска метастазирования. Энуклеация в настоящее время перестала быть основным методом лечения при больших злокачественных опухолях сосудистой оболочки глаза. В последнее время вместо энуклеации как метода лечения применяют различные методики лучевой терапии, в частности брахитерапию (БТ), протонотерапию или стереотаксическую лучевую терапию, операции с использованием гамма-ножа и различных комбинированных методик, включающих один из видов лазерной терапии. Чем раньше выявлена МХ, тем лучше прогноз [14].

Смерть пациента от МХ связана с развитием метастазов. Ряд авторов считают, что наиболее важными клиническими предикторами метастазирования остаются цитогенетические аспекты и размер опухоли [2, 3, 15–18]. Предполагается, что микрометастазы из МХ присутствуют уже до начала лечения первичной опухоли. В период образования микрометастазов размер первичной опухоли может составлять приблизительно 3 мм в диаметре и 1,5 мм в высоту, или 7 мм³ в объеме [19]. Это подчеркивает важность ранней диагностики первичного очага МХ, раннего выявления прогрессирования опухоли и возможную пользу адьювантной химиотерапии у пациентов с МХ на момент первоначального диагноза.

Раннее выявление, как и раннее лечение, может иметь решающее значение для выживаемости при МХ. Профилирование экспрессии генов и органосохраняющее лечение с адьювантной химиотерапией позволяют предотвратить или снизить метастазирование на ранних стадиях опухолевого процесса [18]. Более чем у половины пациентов МХ выявляется на той стадии, когда энуклеация является единственным методом лечения. К энуклеации прибегают в случаях, когда у пациентов уже отсутствует острота зрения на фоне опухолевого процесса, имеет место экстрасклеральный рост опухоли (в таких случаях используется более калечащая операция – экзентерация) или инвазия опухоли в цилиарное тело и диск зрительного нерва (ДЗН), диаметр опухоли >18 мм и толщина опухоли >12 мм, а также тогда, когда у самого пациента нет желания сохранить глазное яблоко [20–22]. Гипотеза Zimmerman–McLean–Foster, согласно которой энуклеация глаза с увеальной меланомой ускоряет распространение опухолевых клеток, является безосновательной [23].

В литературном обзоре В. Damato с соавт. [24] показано, что у 344 пациентов с резекцией опухоли 8-летние показатели сохранения глазного яблока составили 81 %, зрительных функций – 64 %, безрецидивный период составил 75 %. Эндорезекция МХ представлялась спорной из-за опасений распространения опухоли ятрогенным путем.

Использование дистанционной лучевой терапии больших меланом перед проведением энуклеации не дало положительных результатов в показателях выживаемости, поэтому The Collaborative Ocular Melanoma Study (COMS) не рекомендовало ее к применению [25]. К альтернативным хирургическим методам лечения увеальной меланомы относятся трансретинальная и транссклеральная эндорезекции. Последняя может быть предпринята у пациентов с большими опухолями, у которых возможно проведение органосохраняющего лечения. Преимущество транссклеральной резекции заключается в сохранении остроты зрения, однако это вмешательство сопряжено с осложнениями со стороны оболочек глазного яблока. Частота локальных рецидивов при транссклеральной резекции выше, чем при энуклеации или БТ [26, 27].

Транссклеральные резекции меланомы сосудистой оболочки глаза больших размеров с самым длительным периодом наблюдения представлены учеными Инсбрукского медицинского университета. Согласно их данным, 5- и 10-летний местные рецидивы опухоли составили 24 и 32 % соответственно [28], а 5- и 10-летняя частота метастазирования – 28 и 44 %. Если адьювантная БТ с ^{106}Ru не проводилась, риск рецидива повышался в 4,4 раза. Опасность локального рецидива при транссклеральной резекции была отмечена при изучении цилиохориоидальных меланом с большой высотой: частота рецидивов через 5 лет после резекции составила 41 % по сравнению с 7 % после БТ [29].

По данным А. S. Stoiukhina с соавт. [30], выбор метода лечения пациентов с крупными хориоидальными меланомами остается предметом обсуждения. Проанализированы 5-летние показатели выживаемости 103 пациентов с меланомами хориоидеи больших размеров в зависимости от проведенного лечения и размеров опухоли (высота 5,0–10,2 мм, основание 7,3–20 мм). Из 60 пролеченных пациентов 46 выполнена БТ (однократная установка в 37 случаях), а остальным 14 – БТ в сочетании с транспупиллярной термордиотерапией (ТТТ) с последующей эндорезекцией опухоли (в 1 случае). В общей сложности 16 пациентам из этой группы проведена энуклеация. Первичная энуклеация выполнена 63 пациентам второй группы. В группе с органосохраняющим лечением 5-летняя кумулятивная выживаемость составила 0,8146 (81 %), тогда как в группе с первичной энуклеацией – 0,8951 (89 %); 8-летняя выживаемость составила 0,6921 (69 %) и 0,7555 (75 %) соответственно ($p = 0,11$). У пациентов с большой хориоидальной меланомой, перенесших операцию по сохранению глаз, 5-летняя выживаемость составила 0,7708 (77 %), 9-летняя – 0,6175 (62 %). После первичной энуклеации 5-летняя выживаемость при меланоме выше, чем после органосохраняющего лечения и вторичной энуклеации при отсутствии эффекта от органосохраняющего лечения (разница статистически не значима). Авторы делают вывод, что варианты лечения больших МХ следует подбирать индивидуально, принимая во внимание возраст, отношение пациента к лечению, а также размер опухоли.

Рандомизированные многоцентровые клинические исследования, проведенные группой Collaborative Ocular Melanoma Study (COMS), не выявили различий в выживаемости пациентов, получавших БТ или энуклеацию при опухолях (базальный диаметр <16 мм, апикальная высота 2,5–10 мм) [25]. Не отмечено различий в смертности при БТ до проведения энуклеации при больших опухолях.

В лечении МХ применяется также стереотаксическая фотонная лучевая терапия с использованием кибер-ножа, гамма-ножа или линейного ускорителя. Степень излеченности первичного очага (полной резорбции опухоли), процент сохранения глазных яблок, показатель выживаемости пациентов, подвергающихся стереотаксической лучевой терапии фотонным пучком, сопоставимы с таковыми у пациентов, которым проводилась лучевая терапия протонным пучком [31]. Представлены данные лечения пациентов с опухолями Т3–Т4 (классификация AJCC). У 48 % пациентов, согласно классификации Collaborative Ocular Melanoma Study, имелись большие опухоли (средняя толщина составляла 7,1 мм, цилиарное тело было вовлечено в 35 % случаев). Выживаемость пациентов без метастазирования составила 72 и 57 %, общая выживаемость – 77

и 63 %, сохранность глазных яблок за 5- и 10-летний периоды – 85 и 85 %, частота энуклеации – 22 и 22 %, полная слепота – 38 и 38 % соответственно. При однофакторном анализе у пациентов с вовлечением цилиарного тела безметастатическая и общая выживаемость была значительно хуже, чем у пациентов без вовлечения цилиарного тела ($p < 0,001$) [32].

Цель работы – оценить эффективность лечения пациентов с меланомой сосудистой оболочки глаза.

Материалы и методы исследования. Использованы данные Белорусского канцер-регистра и истории болезни пациентов с морфологически подтвержденным диагнозом меланомы сосудистой оболочки глаза (С69.3 по МКБ-10) за период с 1999 по 2018 г. [33].

За указанный период в Республике Беларусь зарегистрировано 1500 пациентов с меланомой сосудистой оболочки глаза. Энуклеация глазного яблока как радикальный хирургический метод лечения была проведена 724 пациентам. В группу пациентов с экзентерацией вошли 38 человек, в группу пациентов с опухолями больших размеров сосудистой оболочки глаза с комбинированным органосохраняющим лечением – 60.

Оценку заболеваемости проводили на основе анализа абсолютного числа заболевших, грубых интенсивных показателей, рассчитанных на 1 000 000 населения, оценку развития прогрессирования (в зависимости от вида лечения) – с использованием критерия χ^2 . Для расчета выживаемости использовали показатель скорректированной кумулятивной 5-летней выживаемости.

Результаты и их обсуждение. По данным Белорусского канцер-регистра, показатели заболеваемости на 1 000 000 населения за анализируемый период колебались от 0,2 ‰ в 1999 г. до 1,2 ‰ в 2018 г., что в среднем составило 0,9 ‰ [33].

Из 724 пациентов с проведенной энуклеацией у 696 (96,1 %) МХ классифицировалась как T1d-4N0M0, у 6 пациентов (0,8 %) – как T2b-d-4N0M1. У 22 (3,1 %) пациентов опухоль не классифицирована в связи с тем, что энуклеация проводилась не в специализированном учреждении. Доля пациентов с синхронным и метакронным раком составила 13,9 % (101 пациент). В анализируемую группу вошли 623 пациента с единственной опухолью МХ.

На рис. 1 представлена диаграмма распределения пациентов с проведенной энуклеацией глазного яблока по классификации TNM Международного противоракового союза в соответствии с правилами 8-й редакции руководства по стадированию рака.

Как следует из этой диаграммы, у большинства (84,5 %) пациентов распространенность опухоли была 28,3 % (T2N0M0) и 56,2 % (T3N0M0).

На рис. 2 представлена динамика снижения количества энуклеаций.

Анализ данных показал, что количество энуклеаций, проведенных с 1999 по 2018 г., планомерно уменьшалось с 73,9 % в 1999 г. до 44,1 % в 2018 г. (в 1,8 раза), что свидетельствует о развитии органосохраняющих методик лечения в Республике Беларусь за последние десятилетия.

За анализируемый период экзентерация была проведена 38 пациентам с МХ. У большинства пациентов (20 (52,6 %)) опухоль была классифицирована как T4N0M0, у 4 (10,5 %) – как T2b-dN0M0, у 8 (21,1 %) – как T3b-dN0M0, у 6 (15,8 %) пациентов опухоль не классифицирована. Синхронный и метакронный рак при данной распространенности зарегистрирован у 6 (15,8 %) пациентов. В группу после проведенной экзентерации вошли 32 пациента с единственной опухолью – МХ.

Из 623 пациентов с единственной опухолью после проведенной энуклеации прогрессирование заболевания зарегистрировано у 159 (25,5 %) пациентов: на первом году – у 25 (15,7 %), на втором – у 50 (31,5 %), на четвертом году и более – у 84 (52,8 %).

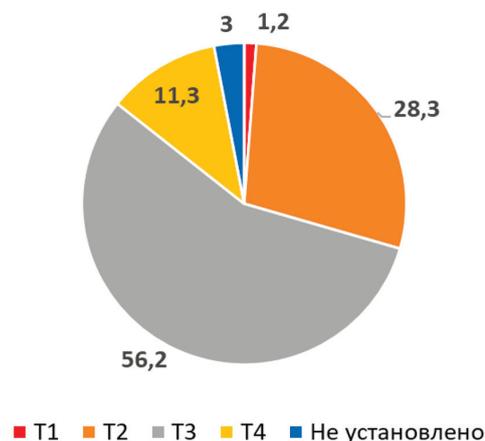


Рис. 1. Распределение пациентов с проведенной энуклеацией глазного яблока согласно классификации TNM, %

Fig. 1. Distribution of patients subjected to eyeball enucleation (TNM classification), %

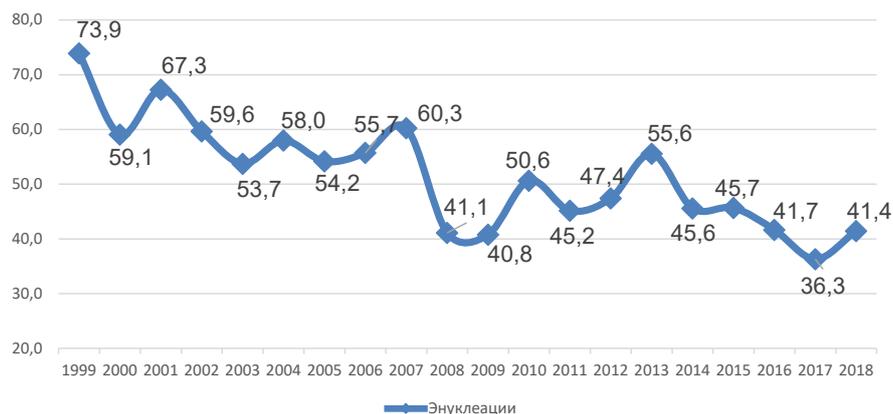


Рис. 2. Динамика снижения проведенных энуклеаций в ГУ РНПЦ ОМР им. Н. Н. Александрова, % к числу заболевших

Fig. 2. Dynamics of reducing the number of enucleations performed at the N. N. Alexandrov National Cancer Centre (percentage of new patients)

В группе пациентов с проведенной экзентерацией (32 человека) прогрессирование процесса было выявлено у 17 (53,1 %). Из них прогрессирование на первом году возникло у 9 (52,9 %) пациентов, на втором – у 5 (29,4 %), на четвертом году и более – у 3 (17,7 %).

В группе с комбинированным лечением (фотодинамическая терапия (ФДТ) + транспупиллярная термотерапия + БТ) у 2 (3,3 %) пациентов выявлен синхронный и метакронный рак. Прогрессирование заболевания после органосохраняющего лечения было зарегистрировано у 10 (17,2 %) человек из 58. Прогрессирование на первом году возникло у 1 (10,0 %) пациента, на втором – у 6 (60,0 %), на четвертом году и более – у 3 (30,0 %).

При оценке риска прогрессирования в группах с ликвидирующим и органосохраняющим комбинированным лечением статистически значимых различий не выявлено ($p < 0,16$).

Для сравнительной оценки выживаемости после энуклеации и комбинированного лечения были сформированы группы пациентов с опухолями больших размеров. При расчете выживаемости единственной опухолью в данных группах была МХ. В таблице представлены показатели кумулятивной скорректированной выживаемости пациентов после проведенного лечения.

Показатели кумулятивной скорректированной выживаемости пациентов после проведенного лечения
Adjusted cumulative survival rates for patients after treatment

Группа	Кумулятивный показатель выживаемости, лет				
	1	2	3	4	5 и более
Энуклеация ($n = 623$)	96,7 ± 0,7	89,8 ± 1,3	79,8 ± 1,8	70,9 ± 2,1	67,2 ± 2,2
Органосохраняющее лечение ($n = 58$)	100 ± 0	98,2 ± 1,8	96,3 ± 2,5	88,3 ± 4,5	85,7 ± 5,1
Экзентерация ($n = 32$)	93,3 ± 4,6	70,4 ± 8,8	53,9 ± 9,9	44,1 ± 10,2	37,8 ± 10,5

Размеры опухолей у пациентов сравниваемых групп были сопоставимы. По представленным данным, показатели выживаемости пациентов после проведенного органосохраняющего лечения были незначительно выше, а различия между ними увеличивались только к 5-му году наблюдения.

Заключение. По данным Белорусского канцер-регистра, показатель заболеваемости на 1 000 000 населения в среднем составил 0,9 ‰. Большинство пациентов (84,5 %) имели стадии T2N0M0 (28,3 %) и T3N0M0 (56,2 %). Количество энуклеаций, проведенных с 1999 по 2018 г., планомерно уменьшалось с 73,9 % в 1999 г. до 44,1 % в 2018 г. (в 1,8 раза), что свидетельствует о развитии органосохраняющих методик лечения меланомы сосудистой оболочки глаза в Республике Беларусь за два последних десятилетия. Экзентерация за анализируемый период была проведена 38 пациентам с МХ при распространенности опухоли T4N0M0 ($p < 0,16$). После проведенной

энуклеации прогрессирование заболевания зарегистрировано у 159 (25,5 %) из 623 пациентов: на первом году – у 25 (15,7 %) пациентов, на втором – у 50 (31,5 %), на четвертом году и более – у 84 (52,8 %).

В группе с проведенной экзентерацией прогрессирование заболевания выявлено у 17 (53,1 %) из 32 пациентов: на первом году – у 9 (52,9 %), на втором – у 5 (29,4 %), на четвертом году и более – у 3 (17,7 %). В группе с комбинированным лечением (ФДТ + ТТТ + БТ) у 10 (17,2 %) из 58 пациентов зарегистрировано прогрессирование заболевания: на первом году – у 1 (10,0 %), на втором – у 6 (60,0 %), на четвертом году и более – у 3 (30,0 %). Сравнительный анализ показал, что риск прогрессирования заболевания в группе пациентов после органосохраняющего лечения не выше, чем у пациентов после энуклеации ($p < 0,16$).

Показатель кумулятивной скорректированной 5-летней выживаемости пациентов после проведенного органосохраняющего лечения составил $85,7 \pm 5,1$ %, после проведенной энуклеации – $67,2 \pm 2,2$ % (данные статистически значимы при $p < 0,001$).

Таким образом, перспективным направлением в лечении пациентов с МХ является усовершенствование органосохраняющих методик лечения.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список использованных источников

1. Офтальмоонкология / А. Ф. Бровкина [и др.] ; под ред. А. Ф. Бровкиной. – М. : Медицина, 2002. – 420 с.
2. Metastasis of uveal melanoma millimeter-by-millimeter in 8033 consecutive eyes / C. L. Shields [et al.] // Arch. Ophthalmol. – 2009. – Vol. 127, N 8. – P. 989–998. <https://doi.org/10.1001/archophthalmol.2009.208>
3. Singh, A. D. Uveal melanoma: trends in incidence, treatment, and survival / A. D. Singh, M. E. Turell, A. K. Topham // Ophthalmology. – 2011. – Vol. 118, N 9. – P. 1881–1885. <https://doi.org/10.1016/j.ophtha.2011.01.040>
4. Andreoli, M. T. Epidemiological trends in uveal melanoma / M. T. Andreoli, W. F. Mieler, Y. Leiderman // Br. J. Ophthalmol. – 2015. – Vol. 99, N 11. – P. 1550–1553. <https://doi.org/10.1136/bjophthalmol-2015-306810>
5. Kivelä, T. The epidemiological challenge of the most frequent eye cancer: retinoblastoma, an issue of birth and death / T. Kivelä // Br. J. Ophthalmol. – 2009. – Vol. 93, N 9. – P. 1129–1131. <https://doi.org/10.1136/bjo.2008.150292>
6. Nationwide incidence of ocular melanoma in South Korea by using the National cancer registry database (1999–2011) / S. J. Park [et al.] // Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. – 2015. – Vol. 56, N 8. – P. 4719–4724. <https://doi.org/10.1167/iovs.15-16532>
7. Clinical and histopathological characteristics of uveal melanoma in Asian Indians. A study of 103 patients / J. Biswas [et al.] // Indian J. Ophthalmol. – 2004. – Vol. 52, N 1. – P. 41–44.
8. Cheng, C.-Y. Incidence of eye cancer in Taiwan: an 18-year review / C.-Y. Cheng, W.-M. Hsu // Eye. – 2004. – Vol. 18, N 2. – P. 152–158. <https://doi.org/10.1038/sj.eye.6700619>
9. Clinical characteristics of 582 patients with uveal melanoma in China / Y. M. Liu [et al.] // PLoS ONE. – 2015. – Vol. 10, N 12. – P. e0144562. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0144562>
10. Histologic findings and prognosis of uveal malignant melanoma in Japanese patients / T. Sakamoto [et al.] // Am. J. Ophthalmol. – 1996. – Vol. 121, N 3. – P. 276–283. [https://doi.org/10.1016/s0002-9394\(14\)70275-2](https://doi.org/10.1016/s0002-9394(14)70275-2)
11. Uveal melanomas in black patients: a case series and comparative review / B. A. Phillipotts [et al.] // J. Natl. Med. Assoc. – 1995. – Vol. 87, N 9. – P. 709–714. PMID: PMC2607893
12. Hudson, H. L. Choroidal melanomas in Hispanic patients / H. L. Hudson, S. Valluri, N. A. Rao // Am. J. Ophthalmol. – 1994. – Vol. 118, N 1. – P. 57–62. [https://doi.org/10.1016/s0002-9394\(14\)72842-9](https://doi.org/10.1016/s0002-9394(14)72842-9)
13. Науменко, Л. В. Анализ статистических показателей заболеваемости меланомой сосудистой оболочки глаза в Республике Беларусь за период 1997–2016 гг. / Л. В. Науменко, Е. П. Жилиева, А. А. Евмененко // Онкол. журн. – 2018. – Т. 12, № 3–4. – С. 21–28.
14. Damato, B. Progress in the management of patients with uveal melanoma. The 2012 Ashton lecture / B. Damato // Eye. – 2012. – Vol. 26, N 9. – P. 1157–1172. <https://doi.org/10.1038/eye.2012.126>
15. Chromosome 3 status combined with BAP1 and EIF1AX mutation profiles are associated with metastasis in uveal melanoma / K. G. Ewens [et al.] // Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. – 2014. – Vol. 55, N 8. – P. 5160–5167. <https://doi.org/10.1167/iovs.14-14550>
16. Field, M. G. Recent developments in prognostic and predictive testing in uveal melanoma / M. G. Field, J. W. Harbour // Curr. Opin. Ophthalmol. – 2014. – Vol. 25, N 3. – P. 234–239. <https://doi.org/10.1097/ICU.0000000000000051>
17. Collaborative ocular oncology group report number 1: prospective validation of a multi-gene prognostic assay in uveal melanoma / M. D. Onken [et al.] // Ophthalmology. – 2012. – Vol. 119, N 8. – P. 1596–1603. <https://doi.org/10.1016/j.ophtha.2012.02.017>
18. Kaliki, S. Uveal melanoma: relatively rare but deadly cancer / S. Kaliki, C. L. Shields // Eye. – 2017. – Vol. 31, N 2. – P. 241–257. <https://doi.org/10.1038/eye.2016.275>

19. Genomic profile of 320 uveal melanoma cases: chromosome 8p-loss and metastatic outcome / K. G. Ewens [et al.] // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* – 2013. – Vol. 54, N 8. – P. 5721–5729. <https://doi.org/10.1167/iovs.13-12195>
20. Iodine 125 plaque brachytherapy versus transscleral tumor resection in the treatment of large uveal melanomas / N. E. Bechrakis [et al.] // *Ophthalmology.* – 2002. – Vol. 109, N 10. – P. 1855–1861. [https://doi.org/10.1016/s0161-6420\(02\)01273-3](https://doi.org/10.1016/s0161-6420(02)01273-3)
21. Shields, J. A. Intraocular tumors / J. A. Shields, C. L. Shields // *An atlas and textbook.* – 2nd ed. – Lippincott Williams and Wilkins : Philadelphia, PA, USA, 2008. – P. 85–139.
22. Shields, J. A. Management of posterior uveal melanoma: past, present, and future: the 2014 Charles L. Schepens lecture / J. A. Shields, C. L. Shields // *Ophthalmology.* – 2015. – Vol. 122, N 2. – P. 414–428. <https://doi.org/10.1016/j.ophtha.2014.08.046>
23. The Zimmerman–McLean–Foster hypothesis: 25 years later / A. D. Singh [et al.] // *Br. J. Ophthalmol.* – 2004. – Vol. 88, N 7. – P. 962–967. <https://doi.org/10.1136/bjo.2003.029058>
24. Damato, B. The role of eyewall resection in uveal melanoma management / B. Damato // *Int. Ophthalmol. Clin.* – 2006. – Vol. 46, N 1. – P. 81–93. <https://doi.org/10.1097/01.iio.0000195862.71558.c8>
25. Hawkins, B. S. The Collaborative Ocular Melanoma Study (COMS) randomized trial of pre-enucleation radiation of large choroidal melanoma: IV. Ten-year mortality findings and prognostic factors. COMS report number 24 / B. S. Hawkins // *Am. J. Ophthalmol.* – 2004. – Vol. 138, N 6. – P. 936–951. <https://doi.org/10.1016/j.ajo.2004.07.006>
26. Transscleral resection without hypotensive anaesthesia vs iodine-125 plaque brachytherapy in the treatment of choroidal melanoma / J. Caminal [et al.] // *Eye (Lond.).* – 2016. – Vol. 30, N 6. – P. 833–842. <https://doi.org/10.1038/eye.2016.49>
27. Neoadjuvant proton beam irradiation followed by transscleral resection of uveal melanoma in 106 cases / G. D. Willerding [et al.] // *Br. J. Ophthalmol.* – 2016. – Vol. 100, N 4. – P. 463–467. <https://doi.org/10.1136/bjophthalmol-2015-307095>
28. Ten-year results of transscleral resection of large uveal melanomas: local tumour control and metastatic rate / N. E. Bechrakis [et al.] // *Br. J. Ophthalmol.* – 2010. – Vol. 94, N 4. – P. 460–466. <https://doi.org/10.1136/bjo.2009.162487>
29. Puusaari, I. Transscleral local resection versus iodine brachytherapy for uveal melanomas that are large because of tumour height / I. Puusaari, B. Damato, T. Kivelä // *Graefe's Arch. Clin. Exp. Ophthalmol.* – 2007. – Vol. 245, N 4. – P. 522–533. <https://doi.org/10.1007/s00417-006-0461-9>
30. Стоюхина, А. С. Показатели выживаемости при крупных хориоидальных меланомах // А. С. Стоюхина, И. П. Чесалин // *Вестн. офтальмол.* – 2014. – Т. 130, № 4. – С. 39–44.
31. Local tumor control, visual acuity, and survival after hypofractionated stereotactic photon radiotherapy of choroidal melanoma in 212 patients treated between 1997 and 2007 / R. Dunavoelgyi [et al.] // *Int. J. Rad. Oncol. Biol. Phys.* – 2011. – Vol. 81, N 1. – P. 199–205. <https://doi.org/10.1016/j.ijrobp.2010.04.035>
32. Outcomes of proton beam radiotherapy for large non-peripapillary choroidal and ciliary body melanoma at TRIUMF and the BC cancer agency / B. Weber [et al.] // *Ocul. Oncol. Pathol.* – 2015. – Vol. 2, N 1. – P. 29–35. <https://doi.org/10.1159/000433546>
33. Статистика онкологических заболеваний в Республике Беларусь (2008–2017): Белорусский канцер-регистр / А. Е. Океанов [и др.] ; под ред. О. Г. Сукошко. – Минск : РНПЦ ОМР им. Н. Н. Александрова, 2018. – 284 с.

References

1. Brovkina A. F. (ed.). *Ophthalmic oncology.* Moscow, Meditsina, 2002. 420 p. (in Russian).
2. Shields C. L., Furuta M., Thangappan A., Nagori S., Mashayekhi A., Lally D. R. [et al.]. Metastasis of uveal melanoma millimeter-by-millimeter in 8033 consecutive eyes. *Archives of Ophthalmology*, 2009, vol. 127, no. 8, pp. 989–998. <https://doi.org/10.1001/archophthalmol.2009.208>
3. Singh A. D., Turell M. E., Topham A. K. Uveal melanoma: trends in incidence, treatment, and survival. *Ophthalmology*, 2011, vol. 118, no. 9, pp. 1881–1885. <https://doi.org/10.1016/j.ophtha.2011.01.040>
4. Andreoli M. T., Mieler W. F., Leiderman Y. Epidemiological trends in uveal melanoma. *British Journal of Ophthalmology*, 2015, vol. 99, no. 11, pp. 1550–1553. <https://doi.org/10.1136/bjophthalmol-2015-306810>
5. Kivelä T. The epidemiological challenge of the most frequent eye cancer: retinoblastoma, an issue of birth and death. *British Journal of Ophthalmology*, 2009, vol. 93, no. 9, pp. 1129–1131. <https://doi.org/10.1136/bjo.2008.150292>
6. Park S. J., Oh C.-M., Kim B. W., Woo S. J., Cho H., Park K. H. Nationwide incidence of ocular melanoma in South Korea by using the National cancer registry database (1999–2011). *Investigative Ophthalmology and Visual Science*, 2015, vol. 56, no. 8, pp. 4719–4724. <https://doi.org/10.1167/iovs.15-16532>
7. Biswas J., Kabra S., Krishnakumar S., Shanmugam M. P. Clinical and histopathological characteristics of uveal melanoma in Asian Indians. A study of 103 patients. *Indian Journal of Ophthalmology*, 2004, vol. 52, no. 1, pp. 41–44.
8. Cheng C.-Y., Hsu W.-M. Incidence of eye cancer in Taiwan: an 18-year review. *Eye*, 2004, vol. 18, no. 2, pp. 152–158. <https://doi.org/10.1038/sj.eye.6700619>
9. Liu Y. M., Li Y., Wei W. B., Xu X., Jonas J. B. Clinical characteristics of 582 patients with uveal melanoma in China. *PLoS ONE*, 2015, vol. 10, no. 12, pp. e0144562. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0144562>
10. Sakamoto T., Sakamoto M., Yoshikawa H., Hata Y., Ishibashi T., Ohnishi Y., Inomata H. Histologic findings and prognosis of uveal malignant melanoma in Japanese patients. *American Journal of Ophthalmology*, 1996, vol. 121, no. 3, pp. 276–283. [https://doi.org/10.1016/s0002-9394\(14\)70275-2](https://doi.org/10.1016/s0002-9394(14)70275-2)

11. Phillpotts B. A., Sanders R. J., Shields J. A., Griffiths J. D., Augsburger J. A., Shields C. L. Uveal melanomas in black patients: a case series and comparative review. *Journal of the National Medical Association*, 1995, vol. 87, no. 9, pp. 709–714. PMID: PMC2607893
12. Hudson H. L., Valluri S., Rao N. A. Choroidal melanomas in Hispanic patients. *American Journal of Ophthalmology*, 1994, vol. 118, no. 1, pp. 57–62. [https://doi.org/10.1016/s0002-9394\(14\)72842-9](https://doi.org/10.1016/s0002-9394(14)72842-9)
13. Naumenko L. V., Zhilyaeva E. P., Evmenenko A. A. Analysis of statistical indicators of the incidence of choroidal melanoma in the Republic of Belarus for the period 1997–2016]. *Onkologicheskii zhurnal* [Oncological journal], 2018, vol. 12, no. 3–4, pp. 21–28 (in Russian).
14. Damato B. Progress in the management of patients with uveal melanoma. The 2012 Ashton lecture. *Eye*, 2012, vol. 26, no. 9, pp. 1157–1172. <https://doi.org/10.1038/eye.2012.126>
15. Ewens K. G., Kanetsky P. A., Richards-Yutz J., Purrazzella J., Shields C. L., Ganguly T, Ganguly A. Chromosome 3 status combined with BAP1 and EIF1AX mutation profiles are associated with metastasis in uveal melanoma. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 2014, vol. 55, no. 8, pp. 5160–5167. <https://doi.org/10.1167/iovs.14-14550>
16. Field M. G., Harbour J. W. Recent developments in prognostic and predictive testing in uveal melanoma. *Current Opinion in Ophthalmology*, 2014, vol. 25, no. 3, pp. 234–239. <https://doi.org/10.1097/ICU.0000000000000051>
17. Onken M. D., Worley L. A., Char D. H., Augsburger J. J., Correa Z. M., Nudleman E. [et al.]. Collaborative ocular oncology group report number 1: prospective validation of a multi-gene prognostic assay in uveal melanoma. *Ophthalmology*, 2012, vol. 119, no. 8, pp. 1596–1603. <https://doi.org/10.1016/j.ophtha.2012.02.017>
18. Kaliki S., Shields C. L. Uveal melanoma: relatively rare but deadly cancer. *Eye*, 2017, vol. 31, no. 2, pp. 241–257. <https://doi.org/10.1038/eye.2016.275>
19. Ewens K. G., Kanetsky P. A., Richards-Yutz J., Al-Dahmash S., De Luca M. C., Bianciotto C. G., Shields C. L., Ganguly A. Genomic profile of 320 uveal melanoma cases: chromosome 8p-loss and metastatic outcome. *Current Opinion in Ophthalmology*, 2013, vol. 54, no. 8, pp. 5721–5729. <https://doi.org/10.1167/iovs.13-12195>
20. Bechrakis N. E., Bornfeld N., Zöllner I., Foerster M. H. Iodine 125 plaque brachytherapy versus transscleral tumor resection in the treatment of large uveal melanomas. *Ophthalmology*, 2002, vol. 109, no. 10, pp. 1855–1861. [https://doi.org/10.1016/s0161-6420\(02\)01273-3](https://doi.org/10.1016/s0161-6420(02)01273-3)
21. Shields J. A., Shields C. L. Intraocular tumors. *An atlas and textbook. 2nd ed.* Philadelphia, 2008, pp. 85–139.
22. Shields J. A., Shields C. L. Management of posterior uveal melanoma: past, present, and future: the 2014 Charles L. Schepens lecture. *Ophthalmology*, 2015, vol. 122, no. 2, pp. 414–428. <https://doi.org/10.1016/j.ophtha.2014.08.046>
23. Singh A. D., Rennie I. G., Kivela T., Seregard S., Grossniklaus H. The Zimmerman–McLean–Foster hypothesis: 25 years later. *British Journal of Ophthalmology*, 2004, vol. 88, no. 7, pp. 962–967. <https://doi.org/10.1136/bjo.2003.029058>
24. Damato B. The role of eyewall resection in uveal melanoma management. *International Ophthalmology Clinics*, 2006, vol. 46, no. 1, pp. 81–93. <https://doi.org/10.1097/01.iio.0000195862.71558.c8>
25. Hawkins B. S. The Collaborative Ocular Melanoma Study (COMS) randomized trial of pre-enucleation radiation of large choroidal melanoma: IV. Ten-year mortality findings and prognostic factors. COMS report number 24. *American Journal of Ophthalmology*, 2004, vol. 138, no. 6, pp. 936–951. <https://doi.org/10.1016/j.ajo.2004.07.006>
26. Caminal J., Padrón-Pérez N., Arias L., Masuet-Aumatell C., Gutiérrez C., Piulats J. M., Pera J., Catalá J., Rubio M. J., Arruga J. Transscleral resection without hypotensive anaesthesia vs iodine-125 plaque brachytherapy in the treatment of choroidal melanoma. *Eye (Lond.)*, 2016, vol. 30, no. 6, pp. 833–842. <https://doi.org/10.1038/eye.2016.49>
27. Willerding G. D., Cordini D., Moser L., Krause L., Foerster M. H., Bechrakis N. E. Neoadjuvant proton beam irradiation followed by transscleral resection of uveal melanoma in 106 cases. *British Journal of Ophthalmology*, 2016, vol. 100, no. 4, pp. 463–467. <https://doi.org/10.1136/bjophthalmol-2015-307095>
28. Bechrakis N. E., Petousis V., Willerding G., Krause L., Wachtlin J., Stroux A., Foerster M. H. Ten-year results of transscleral resection of large uveal melanomas: local tumour control and metastatic rate. *British Journal of Ophthalmology*, 2010, vol. 94, no. 4, pp. 460–466. <https://doi.org/10.1136/bjo.2009.162487>
29. Puusaari I., Damato B., Kivelä T. Transscleral local resection versus iodine brachytherapy for uveal melanomas that are large because of tumour height. *Graefe's Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology*, 2007, vol. 245, no. 4, pp. 522–533. <https://doi.org/10.1007/s00417-006-0461-9>
30. Stoyukhina A. S., Chesalin I. P. Survival rates for large choroidal melanomas. *Vestnik oftal'mologii* [Bulletin of ophthalmology], 2014, vol. 130, no. 4, pp. 39–44 (in Russian).
31. Dunavoelgyi R., Dieckmann K., Gleiss A., Sacu S., Kircher K., Georgopoulos M., Georg D., Zehetmayer M., Poetter R. Local tumor control, visual acuity, and survival after hypofractionated stereotactic photon radiotherapy of choroidal melanoma in 212 patients treated between 1997 and 2007. *International Journal of Radiation Oncology, Biology, Physics*, 2011, vol. 81, no. 1, pp. 199–205. <https://doi.org/10.1016/j.ijrobp.2010.04.035>
32. Weber B., Paton K., Ma R., Pickles T. Outcomes of proton beam radiotherapy for large non-peripapillary choroidal and ciliary body melanoma at TRIUMF and the BC cancer agency. *Ocular Oncology and Pathology*, 2015, vol. 2, no. 1, pp. 29–35. <https://doi.org/10.1159/000433546>
33. Okeanov A. E., Moiseev P. I., Levin L. F., Evmenenko A. A., Sukonko O. G. *Statistics of oncological diseases in the Republic of Belarus 2008–2017: Belarusian Cancer Register*. Minsk, Belarusian Republican Scientific and Practical Center of Oncology and Medical Radiology named after N. N. Alexandrov, 2018. 284 p. (in Russian).

Информация об авторах

Науменко Лариса Владимировна – канд. мед. наук, вед. науч. сотрудник. Республиканский научно-практический центр онкологии и медицинской радиологии им. Н. Н. Александрова (223040, агр. Лесной, Минский р-н, Республика Беларусь). E-mail: larisanau@mail.ru. <http://orcid.org/0000-0002-1875-9176>.

Красный Сергей Анатольевич – член-корреспондент, д-р мед. наук, профессор, заместитель директора. Республиканский научно-практический центр онкологии и медицинской радиологии им. Н. Н. Александрова (223040, агр. Лесной, Минский р-н, Республика Беларусь). E-mail: sergeykrasny@tut.by. <http://orcid.org/0000-0332-445-664>.

Жуляева Екатерина Павловна – врач-офтальмолог. Республиканский научно-практический центр онкологии и медицинской радиологии им. Н. Н. Александрова (223040, агр. Лесной, Минский р-н, Республика Беларусь). <https://orcid.org/0000-0003-2964-6895>.

Евмененко Алеся Александровна – специалист по противораковому контролю. Республиканский научно-практический центр онкологии и медицинской радиологии им. Н. Н. Александрова (223040, агр. Лесной, Минский р-н, Республика Беларусь). <https://orcid.org/0000-0001-6335-1404>.

Суценья Галина Анатольевна – врач-офтальмолог. Минская областная детская клиническая больница (223040, агр. Лесной, Минский р-н, Республика Беларусь). <https://orcid.org/0000-0003-2427-1967>.

Information about the authors

Larisa V. Naumenko – Ph. D. (Med.), Leading Researcher. N. N. Alexandrov National Cancer Centre of Belarus (223040, Lesnoy, Minsk Region, Republic of Belarus). E-mail: larisanau@mail.ru. <http://orcid.org/0000-0002-1875-9176>.

Sergey A. Krasny – Corresponding Member, D. Sc. (Med.), Professor, Deputy Director. N. N. Alexandrov National Cancer Centre of Belarus (223040, Lesnoy, Minsk Region, Republic of Belarus). E-mail: sergeykrasny@tut.by. <http://orcid.org/0000-0332-445-664>.

Katsiaryna P. Zhyliaeva – Ophthalmologist. N. N. Alexandrov National Cancer Centre of Belarus (223040, Lesnoy, Minsk region, Republic of Belarus). <https://orcid.org/0000-0003-2964-6895>.

Alesya A. Evmenenko – Anticancer Control Specialist. N. N. Alexandrov National Cancer Centre of Belarus (223040, Lesnoy, Minsk Region, Republic of Belarus). <https://orcid.org/0000-0001-6335-1404>.

Galina A. Suschenya – Ophthalmologist. Minsk Regional Children's Clinical Hospital (223040, Lesnoy, Minsk Region, Republic of Belarus). <https://orcid.org/0000-0003-2427-1967>.

ISSN 1814-6023 (Print)

ISSN 2524-2350 (Online)

УДК 616.8-009.836-06:611.018.74:612.13

<https://doi.org/10.29235/1814-6023-2020-17-3-329-336>

Поступила в редакцию 05.05.2020

Received 05.05.2020

Е. К. Юшкевич¹, Н. П. Митьковская², Е. А. Григоренко²

¹Городская клиническая больница скорой медицинской помощи, Минск, Республика Беларусь

²Белорусский государственный медицинский университет, Минск, Республика Беларусь

СИНДРОМ ОБСТРУКТИВНОГО АПНОЭ ВО СНЕ: ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ ЭНДОТЕЛИЯ СОСУДОВ И ОСОБЕННОСТИ МОЗГОВОЙ ГЕМОДИНАМИКИ

Аннотация. Цель исследования – выявить связь между показателями функционального состояния эндотелия сосудов и регионального мозгового кровотока у лиц трудоспособного возраста со средней и тяжелой степенью синдрома обструктивного апноэ во сне.

Проведено поперечное проспективное наблюдательное исследование, включавшее 24 человека, из которых 16 пациентов трудоспособного возраста с диагнозом синдрома обструктивного апноэ во сне (СОАС) средней и тяжелой степени вошли в основную группу исследования, а 8 человек, не имевших нарушений по данным полисомнографии, – в группу контроля. Определены уровни биохимических маркеров дисфункции эндотелия, показатели эндотелийзависимой вазодилатации плечевой артерии, выполнена однофотонная эмиссионная компьютерная томография головного мозга с использованием ^{99m}Tc-гексаметилпропиленаминоксима.

Установлено, что у пациентов трудоспособного возраста с СОАС средней и тяжелой степени достоверно более низкие среднегрупповые значения сыровоточного уровня оксида азота (11,7 (6,25–18,30) мкмоль/л против 34,4 (25,33–41,70) мкмоль/л в группе контроля, $p < 0,01$), более высокие концентрации гомоцистеина (19,4 (15,13–23,76) мкмоль/л против 11,6 (6,40–14,71) мкмоль/л в группе контроля, $p < 0,05$), sP-селектина 176 (142,0–189,0) нг/мл против 122 (113,3–168,5) нг/мл в группе контроля, $p < 0,05$) и sE-селектина (78 (69,0–121,0) нг/мл против 52 (43,1–73,3) нг/мл в группе контроля, $p < 0,05$). Получены данные о корреляции уровня нейроморальных маркеров дисфункции эндотелия sP-селектина ($p < 0,01$) и sE-селектина ($p < 0,05$) со степенью нарушения регионального мозгового кровотока. Выявлена прямая связь между маркерами эндотелийзависимой вазодилатации и показателями регионального мозгового кровотока в лобных сегментах ($p < 0,05$), височном сегменте справа ($p < 0,05$).

Ключевые слова: синдром обструктивного апноэ во сне, региональный мозговой кровоток, функциональное состояние эндотелия, маркеры эндотелиальной дисфункции

Для цитирования: Юшкевич, Е. К. Синдром обструктивного апноэ во сне: функциональное состояние эндотелия сосудов и особенности мозговой гемодинамики / Е. К. Юшкевич, Н. П. Митьковская, Е. А. Григоренко // Вест. Нац. акад. наук Беларусі. Сер. мед. навук. – 2020. – Т. 17, № 3. – С. 329–336. <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2020-17-3-329-336>

Elena K. Yushkevich¹, Natalya P. Mitkovskaya², Elena A. Grigorenko²

¹Minsk City Emergency Hospital, Minsk, Republic of Belarus

²Belarusian State Medical University, Minsk, Republic of Belarus

OBSTRUCTIVE SLEEP APNEA SYNDROME: FUNCTIONAL STATE OF VASCULAR ENDOTHELIUM AND FEATURES OF BRAIN HEMODYNAMICS

Abstract. The aim of the study is to identify the relationships between the functional state of vascular endothelium and regional cerebral blood flow in people of working age with moderate to severe obstructive sleep apnea syndrome.

A transverse prospective observational study was conducted. It included 24 patients. Among them were 16 patients of working age with moderate to severe obstructive sleep apnea syndrome who were included in the main study group and 8 patients without sleep disorders in the control group according to polysomnography. The levels of biochemical markers of endothelial dysfunction, the indicators of endothelium-dependent vasodilation of the brachial artery were determined. Single-photon emission computed tomography of the brain was performed using ^{99m}Tc-hexamethylpropyleneaminoxime.

In the patients of working age with moderate to severe obstructive sleep apnea syndrome, significantly lower average group values of the serum nitric oxide level of 11.7 (6.25–18.30) $\mu\text{mol/l}$ were detected versus 34.4 (25.33–41.70) $\mu\text{mol/l}$ in the control group, $p < 0.01$, as well as higher homocysteine concentrations of 19.4 (15.13–23.76) $\mu\text{mol/l}$ versus 11.6 (6.40–14.71) $\mu\text{mol/l}$ in the control group, $p < 0.05$, sP-selectin 176 (142.0–189.0) ng/ml versus 122 (113.3–168.5) ng/ml in the control group, $p < 0.05$, and sE β -selectin 78 (69.0–121.0) ng/ml versus 52 (43.1–73.3) ng/ml in the control group, $p < 0.05$.

The data on the correlation of the level of neurohumoral markers of endothelial dysfunction of sP-selectin ($p < 0.01$) and sE-selectin ($p < 0.05$) with the degree of impaired regional cerebral blood flow were obtained. A direct relationship was found between the markers of endothelium-dependent vasodilation and regional cerebral blood flow in the frontal segments ($p < 0.05$), the temporal segment on the right ($p < 0.05$).

Keywords: obstructive sleep apnea syndrome, regional cerebral blood flow, endothelial functional state, markers of endothelial dysfunction

For citation: Yushkevich E. K., Mitkovskaya N. P., Grigorenko E. A. Obstructive sleep apnea syndrome: functional state of vascular endothelium and features of brain hemodynamics. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seriya meditsinskikh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2020, vol. 17, no. 3, pp. 329–336 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2020-17-3-329-336>

Введение. Синдром обструктивного апноэ во сне (СОАС) характеризуется повторяющимися эпизодами апноэ/гипопноэ во время сна, снижением сатурации кислорода в ночное время, громким прерывистым храпом и чрезмерной дневной сонливостью. Хроническая рецидивирующая гипоксемия, гиперкапния и нарушение реологических свойств крови вызывают функциональные изменения в системе церебрального кровообращения и тканях головного мозга, которые приводят к прогрессированию церебрального атеросклероза и неблагоприятным цереброваскулярным событиям. Интермиттирующая гипоксия и последующая реоксигенация являются теми факторами, которые вызывают дисфункцию митохондрий и эндоплазматического ретикула, дисбаланс между прооксидантами и антиоксидантами, развитие окислительного стресса, воспалительную реакцию, дисфункцию эндотелия сосудов головного мозга. Данные патогенетические механизмы лежат в основе повреждения нейронов, особенно в областях гиппокампа и коры головного мозга, наиболее восприимчивых к гипоксии и окислительному стрессу, и, как следствие, приводят к развитию цереброваскулярной недостаточности и нейрокогнитивной дисфункции [1].

По результатам исследования Sleep Heart Health Study [2], у лиц с СОАС в сравнении с представителями контрольной группы исследования, у которых отсутствовали респираторные обструктивные нарушения в ночное время, показатель отношения шансов развития острых нарушений мозгового кровообращения составил 1,6, а по данным Wisconsin Sleep Cohort Study [3] – 4,3. Результаты исследования с использованием транскраниальной доплерографии, метода ингаляции радиоактивного ксенона-133, однофотонной эмиссионной компьютерной томографии (ОФЭКТ) показали, что у лиц, страдающих СОАС, в период фазы медленного сна отмечается снижение регионального мозгового кровотока (рМК) на 5–28 %, а в период фазы быстрого сна – рост рМК на 4–41 % по сравнению с данными показателями у пациентов контрольных групп [4].

ОФЭКТ головного мозга с мечеными метилированными аминами рассматривается как высокочувствительный метод функциональной нейровизуализации головного мозга. Перспективность его использования обусловлена возможностью оценки изменений церебрального кровотока как качественно, так и количественно, доступностью и воспроизводимостью результатов. Однако работы, посвященные исследованию мозговой перфузии у лиц с СОАС, единичны, а их результаты противоречивы [5, 6].

Повреждающее воздействие изменений артериального давления в крупных сосудах головного мозга на мелкие артерии, артериолы и капилляры приводит к развитию дисфункции эндотелия и нарушению гематоэнцефалического барьера. Особенно чувствительны к воздействию острой ишемии области головного мозга с ослабленным цереброваскулярным резервом [7]. Это касается в первую очередь участков мозга без хорошо развитой коллатеральной системы, включая пограничные зоны кровоснабжения и области, получающие питание от терминальных участков артерий. Подтверждением данного факта является высокий риск развития лакунарных инфарктов мозга, болезни мелких сосудов и лейкоареоза при наличии СОАС [8].

Цель исследования – выявить связь между показателями функционального состояния эндотелия сосудов и регионального мозгового кровотока у лиц трудоспособного возраста со средней и тяжелой степенью синдрома обструктивного апноэ во сне.

Материалы и методы исследования. Проведено поперечное проспективное обсервационное исследование, включавшее 24 человека, из которых 16 пациентов трудоспособного возраста с диагнозом СОАС средней и тяжелой степени вошли в основную группу. Индекс апноэ/гипопноэ (ИАГ) в данной группе составил 45,0 (22,85–62,85), индекс десатурации (ИД) – 30,8 (7,85–56,05).

Группа контроля была сформирована из 8 лиц, не имевших, по данным полисомнографии, СОАС: ИАГ – 1,9 (0,63–2,32), ИД – 1,4 (0,95–3,18).

Критерии исключения из исследования: острые инфекционные заболевания, острые сердечно-сосудистые и цереброваскулярные заболевания во время проведения исследования и в анамнезе, тяжелые заболевания печени, почек, эндокринных органов, онкологические заболевания, патология органов дыхания с нарушением их функции, системные васкулиты, психические заболевания, препятствующие подписанию информированного согласия.

Сравнительная характеристика групп исследования приведена в табл. 1. Достоверных различий по полу, возрасту, индексу массы тела, наличию сахарного диабета, артериальной гипертензии между пациентами обеих групп не выявлено. Уровни ИАГ и ИД в группе лиц с СОАС превышали данные показатели в группе контроля.

Таблица 1. Сравнительная характеристика групп исследования

Table 1. Comparative characteristics of the study groups

Показатель/признак	Пациенты с СОАС (n = 16)	Пациенты без СОАС (n = 8)	Критерии однородности выборок
Мужской пол, % (n)	62,5 (10)	87,5 (7)	$\chi^2 = 1,6$
Возраст, М ± σ	51,3 ± 6,17	48,9 ± 3,27	$p > 0,05$
ИМТ, Ме [25 %-75 %]	34,0 (30,25–35,00)	30,5 (27,00–34,50)	$p > 0,05$
Сахарный диабет, n	2	1	$p > 0,05$
Артериальная гипертензия, n	14	6	$p > 0,05$
ИАГ, Ме [25 %-75 %]	45,0 (22,85–62,85)	1,9 (0,63–2,32)	$U = 78,00, p < 0,001$
ИД, Ме [25 %-75 %]	44,0 (26,45–56,08)	1,4 (0,95–3,18)	$U = 60,00, p < 0,001$

Примечание. ИМТ – индекс массы тела, ИАГ – индекс апноэ/гипопноэ, ИД – индекс десатурации.

Для оценки уровня биохимических маркеров, отражающих функциональное состояние эндотелия, определяли показатели высокочувствительного С-реактивного белка (вЧСРБ), sP-селектина, sE-селектина, эндотелина-1, гомоцистеина, оксида азота (NO).

Исследование концентрации вЧСРБ и гомоцистеина проводили методом твердофазного непрямого иммуноферментного анализа с использованием наборов CRP Uhs (Universal high sensitivity) фирмы Dialab GmbH (Австрия) и Homocysteine Spinreact, S. A. (Испания). Уровни sP-селектина и sE-селектина определяли методом иммуноферментного анализа с использованием коммерческих наборов фирмы IBL International GmbH (Германия), содержание эндотелина-1 – методом иммуноферментного анализа с применением набора реактивов Endothelin-1 DRG (США). Уровень NO оценивали с помощью спектрофотометрического измерения концентрации нитрит-иона в сыворотке крови, основанного на реакции диазотинирования с реактивом Грисса.

Функциональное состояния эндотелия сосудов определяли по модифицированной методике, предложенной D. S. Celermajer с соавт. [9, 10]. Исследование проводили на ультразвуковом сканере Medison Accuvix V10 линейным датчиком с рабочей частотой 7–12 МГц. После визуализации продольного среза правой плечевой артерии проводили измерение диаметра сосуда в систолу и пиковой линейной скорости кровотока. Для определения эндотелийзависимой вазодилатации рассчитывали изменение (в %) диаметра плечевой артерии после периода гипоксии в сравнении с исходным. В течение 24 ч до начала исследования исключался прием любых вазоактивных лекарственных средств, за 2 ч до исследования запрещалось курение, употребление чая и кофе.

С целью визуализации мозговой перфузии во время проведения ОФЭКТ использовали липофильный препарат ^{99m}Tc -гексаметилпропиленаминоксим (^{99m}Tc -ГМПАО, торговое название Ceretec, GE Healthcare Ltd., Великобритания). На основании 64 проекций, полученных путем ротации детектора томографа с угловым шагом $5,6^\circ$ и экспозицией в каждой проекции около 40 с, изображения срезов ткани головного мозга восстанавливали в трех взаимоперпендикулярных плоскостях: горизонтальной, сагиттальной и фронтальной на матрице 64×64 . С целью стандартизации изображения церебральных структур в сагиттальной плоскости срезы выполняли таким образом, чтобы основание головного мозга располагалось параллельно горизонтальной

плоскости. Первоначально полученные изображения оценивали визуально, а затем рассчитывали уровень рМК отдельно в передней, средней и задней лобных, теменной, височной, затылочных областях и полушариях мозжечка (в мл/100 г ткани в 1 мин) на основании существующей трехкомпонентной модели кинетики ^{99m}Tc -ГМПАО N. Lassen [11], модифицированной Y. Yonekura [12].

Для обработки полученных данных использовали статистические пакеты Microsoft Access 2010, IBM SPSS Statistics 23. Рассчитывали среднее значение (M) и стандартное отклонение (σ) в случае нормального распределения признака, медиану (Me) и межквартильный размах ($Q_{25}-Q_{75}$) для распределений, отличных от нормальных. Для оценки отличий количественных признаков между группами использовали t -критерий Стьюдента, в отличных от нормального распределения случаях – непараметрический тест Манна–Уитни, при оценке распределения дихотомических признаков – критерий χ^2 Пирсона. Различия в группах считали значимыми при вероятности безошибочного прогноза 95,5 % ($p < 0,05$).

Результаты и их обсуждение. У пациентов трудоспособного возраста с диагнозом СОАС средней и тяжелой степени выявлены достоверно более низкие среднегрупповые значения сывороточного уровня оксида азота: 11,7 (6,25–18,30) мкмоль/л против 34,4 (25,33–41,70) мкмоль/л в группе контроля, $p < 0,01$. Уровень гомоцистеина в основной группе исследования был достоверно выше, чем в группе контроля, – 19,4 (15,13–23,76) и 11,6 (6,40–14,71) мкмоль/л соответственно, $p < 0,05$.

О нарушении процессов межклеточной адгезии у пациентов с СОАС свидетельствуют более высокие концентрации в сыворотке крови sP-селектина (176 (142,0–189,0) нг/мл в основной группе против 122 (113,3–168,5) нг/мл в группе контроля, $p < 0,05$) и sE-селектина (78 (69,0–121,0) нг/мл в основной группе против 52 (43,1–73,3) нг/мл в группе контроля, $p < 0,05$), что ассоциируется с выраженностью воспалительных процессов в сосудистой стенке [13, 14] и подтверждает наличие эндотелиальной дисфункции у пациентов основной группы исследования [15].

При определении показателей вчСРБ (22,1 (18,65–23,74) г/л и 9,9 (6,73–21,86) г/л, $p > 0,05$) и эндотелина-1 (0,8 (0,55–0,90) пг/мл и 0,6 (0,53–0,68) пг/мл, $p > 0,05$) достоверных различий между основной и контрольной группой не выявлено.

При проведении корреляционного анализа выявлена умеренная прямая связь между величиной ИАГ и сывороточной концентрацией sP-селектина ($r = 0,691$, $p < 0,01$), а также умеренная обратная связь между ИАГ и содержанием оксида азота ($r = -0,610$, $p < 0,01$). Отмечена умеренная прямая связь между показателем ИД и уровнем sP-селектина ($r = 0,649$, $p < 0,01$), умеренная обратная связь между величиной ИД и сывороточной концентрацией оксида азота ($r = -0,665$, $p < 0,01$).

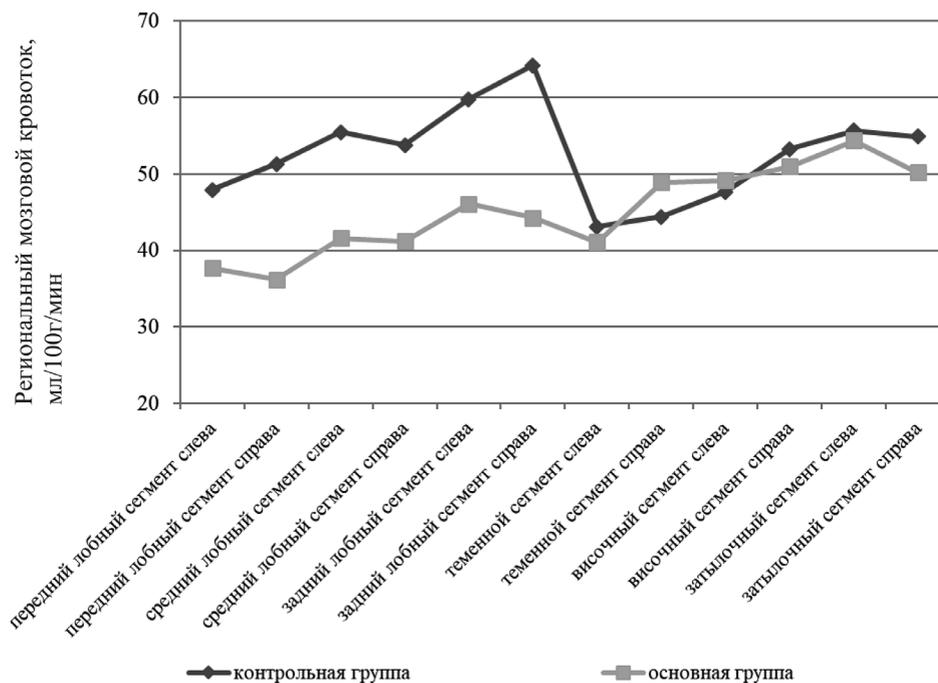
При исследовании эндотелийзависимой вазодилатации плечевой артерии между группами не выявлено достоверных различий в исходном диаметре плечевой артерии и пиковых показателях линейной скорости кровотока. Исходный диаметр плечевой артерии в основной и контрольной группах составил 4,4 и 4,5 мм, пиковая линейная скорость кровотока – 76,2 и 67,5 см/с соответственно. В то же время показатель эндотелийзависимой вазодилатации был достоверно ниже в основной группе исследования – 9 %, в то время как в группе контроля прирост диаметра плечевой артерии составил 16 % ($p < 0,05$). Показатели пиковых линейных скоростей в пробе с вазодилатацией в группах исследования достоверно не отличались (табл. 2).

Таблица 2. Показатели эндотелийзависимой вазодилатации плечевой артерии в группах исследования

Table 2. Indicators of endothelium-dependent brachial artery vasodilation in the study groups

Показатель	Пациенты с СОАС ($n = 16$)	Пациенты без СОАС ($n = 8$)	p
Диаметр артерии до пробы, мм	4,4 (3,90–4,87)	4,5 (3,89–4,92)	>0,05
ЛСК до пробы, см/с	76,2 (66,23–102,20)	67,5 (60,52–73,40)	>0,05
Диаметр артерии после пробы, мм	4,8 (4,38–5,15)	4,8 (4,52–5,72)	>0,05
ЛСК после пробы, см/с	69,5 (60,22–96,18)	60,2 (46,97–70,04)	>0,05
Прирост диаметра артерии, %	9 (4,5–12,5)	16 (9,7–18,3)	<0,05

Примечание. ЛСК – линейная скорость кровотока.



Показатели регионального мозгового кровотока в отдельных сегментах головного мозга в группах исследования
 Indicators of regional cerebral blood flow in individual brain segments in the study groups

При проведении корреляционного анализа установлена обратная связь между приростом диаметра плечевой артерии при проведении пробы с вазодилатацией и уровнем гомоцистеина ($r = -0,532, p < 0,01$).

При сравнительном анализе томограмм головного мозга у пациентов без СОАС выявлены зоны незначительной гипофиксации радиофармпрепарата в переднем лобном сегменте, теменных сегментах с обеих сторон, левом височном сегменте (см. рисунок), что согласовалось с литературными данными об ухудшении показателей перфузии тканей головного мозга в теменных и прилегающих к ним теменно-затылочных, лобно-теменных и височно-теменных областях у лиц с артериальной гипертензией [16].

При оценке регионарного мозгового кровотока в группе лиц с СОАС выявлено статистически значимое снижение фиксации ^{99m}Tc -ГМПАО в лобных сегментах, а также в правом височном сегменте головного мозга относительно группы контроля (табл. 3).

Корреляционный анализ полученных данных продемонстрировал обратную зависимость рМК переднего лобного сегмента слева ($r = -0,527, p < 0,05$) и справа ($r = -0,633, p < 0,01$), среднего лобного сегмента слева ($r = -0,637, p < 0,01$) и справа ($r = -0,602, p < 0,01$), заднего лобного сегмента справа ($r = -0,582, p < 0,01$), затылочного сегмента слева ($r = -0,489, p < 0,05$) и справа ($r = -0,590, p < 0,01$) от величины ИАГ (табл. 4).

Корреляционный анализ показателей региональной мозговой перфузии и уровня биохимических маркеров дисфункции эндотелия продемонстрировал обратную связь между содержанием sP-селектина и величиной рМК в переднем лобном сегменте слева ($r = -0,441, p < 0,01$) и справа ($r = -0,572, p < 0,01$), среднем лобном сегменте слева ($r = -0,563, p < 0,01$) и справа ($r = -0,581, p < 0,01$). Кроме того, выявлена обратная корреляция между уровнем sE-селектина и региональным мозговым кровотоком в среднем лобном сегменте справа ($r = -0,462, p < 0,05$).

Корреляционный анализ показателей региональной мозговой перфузии и величины прироста диаметра плечевой артерии в ответ на пробу с гипоксией выявил прямую зависимость рМК от степени вазодилатации плечевой артерии в переднем лобном сегменте слева ($r = 0,504, p < 0,05$) и справа ($r = 0,443, p < 0,05$), среднем лобном сегменте слева ($r = 0,665, p < 0,01$) и справа ($r = 0,542, p < 0,01$), заднем лобном сегменте слева ($r = 0,580, p < 0,01$) и справа ($r = 0,647, p < 0,01$), а также в височном сегменте справа ($r = 0,431, p < 0,05$).

Таблица 3. Величина регионального мозгового кровотока в отдельных сегментах левого и правого полушария головного мозга у лиц основной и контрольной групп исследования, мл/100г/мин (Ме [25 %–75 %])

Table 3. Regional cerebral blood flow value in individual segments of the brain left and right hemispheres in the patients of the main and control study groups, ml/100g/min (Me [25 %–75 %])

Сегмент головного мозга	Пациенты с СОАС (n = 16)	Пациенты без СОАС (n = 8)	U-критерий Манна-Уитни	p
<i>Левое полушарие:</i>				
передний лобный	37,7 (32,34–40,02)	47,9 (40,31–53,34)	18,00	<0,05
средний лобный	41,6 (38,69–43,65)	55,5 (49,72–61,49)	8,50	<0,05
задний лобный	46,1 (40,44–51,93)	59,8 (54,14–68,34)	17,50	<0,05
теменной	41,1 (35,61–57,81)	43,1 (34,09–49,52)	88,50	>0,05
височный	49,2 (40,43–54,12)	47,7 (46,87–54,33)	48,50	>0,05
затылочный	54,4 (48,4–57,5)	55,7 (49,8–68,62)	39,50	>0,05
<i>Правое полушарие:</i>				
передний лобный	36,2 (32,52–37,84)	51,3 (39,03–53,52)	22,00	<0,05
средний лобный	41,2 (37,78–44,9)	53,8 (50,01–61,09)	24,50	<0,05
задний лобный	44,3 (41,03–53,79)	64,2 (55,72–71, 04)	23,50	<0,05
теменной	48,9 (38,9–53,77)	44,4 (37,63–50,11)	76,50	>0,05
височный	51,0 (43,31–61,43)	53,3 (50,23–63,41)	53,50	>0,05
затылочный	50,2 (45,84–56,28)	54,9 (53,32–58,68)	27,50	<0,05

Таблица 4. Связь регионального мозгового кровотока с величиной индекса апноэ/гипопноэ

Table 4. Relationship between the regional cerebral blood flow and the apnea/hypopnea index value

Сегмент головного мозга	r	p
Передний лобный слева	–0,527	0,021
Передний лобный справа	–0,633	0,004
Средний лобный слева	–0,637	0,003
Средний лобный справа	–0,602	0,006
Задний лобный слева	–0,377	0,112
Задний лобный справа	–0,582	0,009
Теменной слева	0,084	0,732
Теменной справа	0,214	0,378
Височный слева	–0,247	0,308
Височный справа	–0,384	0,105
Затылочный слева	–0,489	0,034
Затылочный справа	–0,590	0,008

Заключение. У пациентов трудоспособного возраста с СОАС средней и тяжелой степени выявлены достоверно более низкие среднегрупповые значения сывороточного уровня оксида азота (11,7 (6,25–18,30) мкмоль/л против 34,4 (25,33–41,70) мкмоль/л в группе контроля, $p < 0,01$), более высокие концентрации гомоцистеина (19,4 (15,13–23,76) мкмоль/л против 11,6 (6,40–14,71) мкмоль/л в группе контроля, $p < 0,05$), sP-селектина (176 (142,0–189,0) нг/мл против 122 (113,3–168,5) нг/мл в группе контроля, $p < 0,05$) и sE-селектина (78 (69,0–121,0) нг/мл против 52 (43,1–73,3) нг/мл в группе контроля, $p < 0,05$). Получены данные о корреляции уровня нейрогуморальных маркеров дисфункции эндотелия sP-селектина ($p < 0,01$) и sE-селектина ($p < 0,05$) со степенью нарушения регионального мозгового кровотока. Установлена прямая связь между маркерами эндотелийзависимой вазодилатации и показателями рМТ в лобных сегментах ($p < 0,05$), височном сегменте справа ($p < 0,05$).

Выявленные особенности мозгового кровотока, а также связь отдельных нейрогуморальных и ультразвуковых маркеров эндотелиальной дисфункции с показателями церебральной гемодинамики свидетельствуют о нарушении функции эндотелия в артериях головного мозга у лиц с СОАС, находящемся в прямой корреляции с величиной индекса апноэ/гипноэ.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список использованных источников

1. Protective role of brain derived neurotrophic factor (BDNF) in obstructive sleep apnea syndrome (OSAS) patients / K. R. Flores [et al.] // *PLoS ONE*. – 2020. – Vol. 15, N 1. – P. e0227834. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0227834>
2. Sleep-disordered breathing and cardiovascular disease: cross-sectional results of the Sleep Heart Health Study / E. Shaha [et al.] // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* – 2001. – Vol. 163, N 1. – P. 19–25. <https://doi.org/10.1164/ajrccm.163.1.2001008>
3. Sleep disordered breathing and mortality: eighteen-year follow-up of the Wisconsin sleep cohort / T. Young [et al.] // *Sleep*. – 2008. – Vol. 31, N 8. – P. 1071–1078. <https://doi.org/10.5665/sleep/31.8.1071>
4. Obstructive sleep apnea during REM sleep and daytime cerebral functioning: a regional cerebral blood flow study using high-resolution SPECT / A. A. Baril [et al.] // *J. Cereb. Blood Flow Metab.* – 2018. – Vol. 40, N 6. – P. 1230–1241. <https://doi.org/10.1177/0271678X18814106>
5. Effect of continuous positive airway pressure on regional cerebral blood flow in patients with severe obstructive sleep apnea syndrome / J. S. Kim [et al.] // *Sleep Med.* – 2017. – Vol. 32. – P. 122–128. <https://doi.org/10.1016/j.sleep.2016.03.010>
6. Regional cerebral blood flow during wakeful rest in older subjects with mild to severe obstructive sleep apnea / A. A. Baril [et al.] // *Sleep*. – 2015. – Vol. 38, N 9. – P. 1439–1449. <https://doi.org/10.5665/sleep.4986>
7. Sharma, S. Sleep apnea and stroke / S. Sharma, A. Culebras // *Stroke Vasc. Neurol.* – 2016. – Vol. 1, N 4. – P. 185–191. <https://doi.org/10.1136/svn-2016-000038>
8. Role of oxidative stress in the neurocognitive dysfunction of obstructive sleep apnea syndrome / L. Zhou [et al.] // *Oxid. Med. Cell Longev.* – 2016. – Vol. 2016. – Art. ID 9626831. <https://doi.org/10.1155/2016/9626831>
9. Non-invasive detection of endothelial dysfunction in children and adults at risk of atherosclerosis / D. S. Celermajer [et al.] // *Lancet*. – 1992. – Vol. 340, N 8828. – P. 1111–1115. [https://doi.org/10.1016/0140-6736\(92\)93147-f](https://doi.org/10.1016/0140-6736(92)93147-f)
10. Guidelines for the ultrasound assessment of endothelial-dependent flow-mediated vasodilation of the brachial artery: a report of the International Brachial Artery Reactivity Task Force / M. C. Corretti [et al.] // *J. Am. Coll. Cardiol.* – 2002. – Vol. 39, N 6. – P. 257–265. [https://doi.org/10.1016/s0735-1097\(01\)01746-6](https://doi.org/10.1016/s0735-1097(01)01746-6)
11. The retention of [^{99m}Tc]-d,l-HM-PAO in the human brain after intracarotid bolus injection: a kinetic analysis / N. A. Lassen [et al.] // *J. Cereb. Blood Flow Metab.* – 1988. – Vol. 8, N 6. – P. 13–22.
12. SPECT with [^{99m}Tc]-d,l-hexamethyl-propylene amine oxime (HM-PAO) compared with regional cerebral blood flow measured by PET: effects of linearization / Y. Yonekura [et al.] // *J. Cereb. Blood Flow Metab.* – 1988. – Vol. 8, N 1_suppl. – P. S82–S89. <https://doi.org/10.1038/jcbfm.1988.36>
13. Circulating P-selectin glycoprotein ligand 1 and P-selectin levels in obstructive sleep apnea patients / P. Horváth [et al.] // *Lung*. – 2020. – Vol. 198, N 1. – P. 173–179. <https://doi.org/10.1007/s00408-019-00299-0>
14. Adhesion molecule gene variants and plasma protein levels in patients with suspected obstructive sleep apnea / A. J. Sandford [et al.] // *PLoS ONE*. – 2019. – Vol. 14, N 1. – P. e0210732. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0210732>
15. Юшкевич, Е. К. Функциональное состояние эндотелия у лиц трудоспособного возраста с синдромом обструктивного апноэ сна / Е. К. Юшкевич, Л. В. Каргун, Н. П. Митьковская // *Неотложная кардиология и кардиоваскулярные риски*. – 2019. – Т. 3, № 1. – С. 553–558.
16. Different relationship between systolic blood pressure and cerebral perfusion in subjects with and without hypertension / L. Glodzik [et al.] // *Hypertension*. – 2019. – Vol. 73, N 1. – P. 197–205. <https://doi.org/10.1161/hypertensionaha.118.11233>

References

1. Flores K. R., Viccaro F., Aquilini M., Scarpino S., Ronchetti F., Mancini R., Napoli A. D., Scozzi D., Ricci A. Protective role of brain derived neurotrophic factor (BDNF) in obstructive sleep apnea syndrome (OSAS) patient. *PLoS ONE*, 2020, vol. 15, no. 1, p. e0227834. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0227834>
2. Shaha E., Whitney C. W., Redline S., Lee E. T., Newman A. B., Nieto F. J., O'Connor G. T., Boland L. L., Schwartz J. E., Samet J. M. Sleep-disordered breathing and cardiovascular disease: cross-sectional results of the Sleep Heart Health Study. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 2001, vol. 163, no. 1, pp. 19–25. <https://doi.org/10.1164/ajrccm.163.1.2001008>
3. Young T., Finn L., Peppard P. E., Szklo-Coxe M., Austin D., Nieto F. J., Stubbs R., Hla K. M. Sleep disordered breathing and mortality: eighteen-year follow-up of the Wisconsin sleep cohort. *Sleep*, 2008, vol. 31, no. 8, pp. 1071–1078. <https://doi.org/10.5665/sleep/31.8.1071>
4. Baril A.-A., Gagnon K., Brayet P., Montplaisir J., Carrier J., Soucy J.-P., Lafond C., Blais H., d'Aragon C., Gagnon J.-F., Gosselin N. Obstructive sleep apnea during REM sleep and daytime cerebral functioning: A regional cerebral blood flow study using high-resolution SPECT. *Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism*, 2018, vol. 40, no. 6, pp. 1230–1241. <https://doi.org/10.1177/0271678X18814106>

5. Kim J. S., Seo J. H., Kang M.-R., Seong M. J., Lee W. G., Joo E. Y., Hong S. B. Effect of continuous positive airway pressure on regional cerebral blood flow in patients with severe obstructive sleep apnea syndrome. *Sleep Medicine*, 2017, vol. 32, pp. 122–128. <https://doi.org/0.1016/j.sleep.2016.03.010>
6. Baril A. A., Gagnon K., Arbour C., Soucy J.-P., Montplaisir J., Gagnon J.-F., Gosselin N. Regional cerebral blood flow during wakeful rest in older subjects with mild to severe obstructive sleep apnea. *Sleep*, 2015, vol. 38, no. 9, pp. 1439–1449. <https://doi.org/10.5665/sleep.4986>
7. Sharma S., Culebras A. Sleep apnea and stroke. *Stroke and Vascular Neurology*, 2016, vol. 1, no. 4, pp. 185–191. <https://doi.org/10.1136/svn-2016-000038>
8. Zhou L., Chen P., Peng Y., Ouyang R. Role of oxidative stress in the neurocognitive dysfunction of obstructive sleep apnea syndrome. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2016, vol. 2016, art. ID 9626831. <https://doi.org/10.1155/2016/9626831>
9. Celermajer D. S., Sorensen K. E., Gooch V. M., Spiegelhalter D. J., Miller O. I., Sullivan I. D., Lloyd J. K., Deanfield J. E. Non-invasive detection of endothelial dysfunction in children and adults at risk of atherosclerosis. *Lancet*, 1992, vol. 340, no. 8828, pp. 1111–1115. [https://doi.org/10.1016/0140-6736\(92\)93147-f](https://doi.org/10.1016/0140-6736(92)93147-f)
10. Corretti M. C., Anderson T. J., Benjamin E. J., Celermajer D., Charbonneau F., Creager M. A. [et al.]. Guidelines for the ultrasound assessment of endothelial-dependent flow-mediated vasodilation of the brachial artery: a report of the International Brachial Artery Reactivity Task Force. *Journal of the American College of Cardiology*, 2002, vol. 39, no. 6, pp. 257–265. [https://doi.org/10.1016/s0735-1097\(01\)01746-6](https://doi.org/10.1016/s0735-1097(01)01746-6)
11. Lassen N. A., Andersen A. R., Friberg L., Paulson O. B. The retention of [^{99m}Tc]-d,l-HM-PAO in the human brain after intracarotid bolus injection: a kinetic analysis. *Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism*, 1988, vol. 8, no. 6, pp. 13–22. <https://doi.org/10.1038/jcbfm.1988.28>
12. Yonekura Y., Nishizawa S., Mukai T., Fujita T., Fukuyama H., Ishikawa M., Kikuchi H., Konishi J., Andersen A. R., Lassen N. A. SPECT with [^{99m}Tc]-d,l-hexamethyl-propylene amine oxime (HM-PAO) compared with regional cerebral blood flow measured by PET: effects of linearization. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*, 1988, vol. 8, no. 1_suppl., pp. S82–S89. <https://doi.org/10.1038/jcbfm.1988.36>
13. Horváth P., Lázár Z., Gálffy G., Puskás R., Kunos L., Losonczy G., Mészáros M., Tárnoki Á. D., Tárnoki D. L., Bikov A. circulating P-selectin glycoprotein ligand 1 and P-selectin levels in obstructive sleep apnea patients. *Lung*, 2020, vol. 198, no. 1, pp. 173–179. <https://doi.org/10.1007/s00408-019-00299-0>
14. Sandford A. J., Ha A., Ngan D. A., Akhabir L., Saferali A., Fox N., Hirsch Allen A. J., Warby S. C., van Eeden S. F., Ayas N. T. Adhesion molecule gene variants and plasma protein levels in patients with suspected obstructive sleep apnea. *PLoS ONE*, 2019, vol. 14, no. 1, p. e0210732. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0210732>
15. Yushkevich E. K., Kartun L. V., Mit'kovskaya N. P. Functional state of endothelium in working age subjects with obstructive sleep apnea syndrome. *Neotlozhnaya kardiologiya i kardioovaskulyarnye riski* [Emergency cardiology and cardiovascular risks], 2019, vol. 3, no. 1, pp. 553–558 (in Russian).
16. Glodzik L., Rusinek H., Tsui W., Pirraglia E., Kim H.-J., Deshpande A. [et al.]. Different relationship between systolic blood pressure and cerebral perfusion in subjects with and without hypertension. *Hypertension*, 2019, vol. 73, no. 1, pp. 197–205. <https://doi.org/10.1161/hypertensionaha.118.11233>

Информация об авторах

Юшкевич Елена Константиновна – аспирант, ведущий отделением. Городская клиническая больница скорой медицинской помощи (ул. Кижеватова, 58, 220024, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: apricurl@gmail.com

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

Григоренко Елена Александровна – канд. мед. наук, доцент, профессор. Белорусский государственный медицинский университет (пр. Дзержинского, 83, 220116, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: alegri@tut.by

Information about the authors

Elena K. Yushkevich – Postgraduate student, Head of the Department. Minsk City Emergency Hospital (Lieutenant Kizhevato Str., 58, 220024, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: apricurl@gmail.com

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

Elena A. Grigorenko – Ph. D. (Med.), Assistant Professor, Professor. Belarusian State Medical University (83, Dzerzhynskii Ave., 220116, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: alegri@tut.by

ISSN 1814-6023 (Print)

ISSN 2524-2350 (Online)

УДК 547.262.099:612.398

<https://doi.org/10.29235/1814-6023-2020-17-3-337-345>

Поступила в редакцию 10.06.2020

Received 10.06.2020

Ю. Е. Разводовский¹, В. Ю. Смирнов², И. Н. Семененя¹

¹Институт биохимии биологически активных соединений НАН Беларуси,

Гродно, Республика Беларусь

²Гродненский государственный медицинский университет, Гродно, Республика Беларусь

ВЛИЯНИЕ АМИНОКИСЛОТНЫХ ПРЕПАРАТОВ НА АМИНОКИСЛОТНЫЙ СОСТАВ ПЕЧЕНИ КРЫС ПРИ СУБХРОНИЧЕСКОЙ АЛКОГОЛЬНОЙ ИНТОКСИКАЦИИ

Аннотация. Исследовано влияние двух комплексных аминокислотных композиций на основе аминокислот с разветвленной углеводородной цепью (АРУЦ), таурина и триптофана на фонд свободных аминокислот печени крыс при субхронической алкогольной интоксикации (СХАИ). Установлено, что СХАИ вызывает дисбаланс в фонде свободных аминокислот печени, проявляющийся снижением уровней треонина, лизина, оксипролина, аргинина, β-аланина, а также обеднением пула незаменимых аминокислот. Внутривенное введение композиции АРУЦ и таурина нормализует соотношение заменимых и незаменимых, а также гликогенных и кетогенных аминокислот, активизирует реакции утилизации азота, повышает индекс Фишера. Эффекты композиции АРУЦ, таурина и триптофана в отношении фонда аминокислот печени в целом схожи с эффектами аминокислотной композиции, не содержащей триптофана.

Ключевые слова: субхроническая алкогольная интоксикация, аминокислоты, печень

Для цитирования: Разводовский, Ю. Е. Влияние аминокислотных препаратов на аминокислотный состав печени у крыс при субхронической алкогольной интоксикации / Ю. Е. Разводовский, В. Ю. Смирнов, И. Н. Семененя // Вест. Нац. акад. наук Беларусі. Сер. мед. навук. – 2020. – Т. 17, № 3. – С. 337–345. <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2020-17-3-337-345>

Yury E. Razvodovsky¹, Vitaly Yu. Smirnov², Igor N. Semeneya¹

¹Institute of Biochemistry of Biologically Active Compounds of the National Academy of Sciences of Belarus,

Grodno, Republic of Belarus

²Grodno State Medical University, Grodno, Republic of Belarus

EFFECTS OF AMINO ACID PREPARATIONS ON THE AMINO ACID COMPOSITION OF THE LIVER OF RATS UNDER SUBCHRONIC ALCOHOL INTOXICATION

Abstract. The effects of complex compositions, containing branched-chain amino acids (BCAA), taurine and tryptophan, on the pool of free amino acids in the liver of rats were studied under the conditions of subchronic alcohol intoxication (SHAI). It was established that SHAI led to the decreased levels of treonine, lysine, oxypoline, arginine, β-alanine, as well as the depletion of the pool of irreplaceable amino acids in the liver of rats. Administration of the composition of BCAA and taurine was found to normalize the ratio of replaceable irreplaceable amino acids, the ratio of glycogenic and ketogenic amino acids, to activate the reaction of nitrogen utilization, and to increase Fisher's index. The effects of the composition, containing BCAA, taurine and tryptophan, were similar to those of amino acid composition that did not contain tryptophan.

Keywords: subchronic alcohol intoxication, amino acids, liver

For citation: Razvodovsky Yu. E., Smirnov V. Yu., Semeneya I. N. Effects of amino acid preparations on the amino acid composition of the liver of rats under subchronic alcohol intoxication. *Vesti Natsyonal'noi akademii nauk Belarusi. Seriya meditsinskikh nauk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2020, vol. 17, no. 3, pp. 337–345 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2020-17-3-337-345>

Введение. Печень играет ключевую роль в обеспечении аминокислотного гомеостаза в организме, поскольку в ней происходят процессы транс- и дезаминирования аминокислот, а также синтез белков [1]. Печень является основной мишенью токсических эффектов алкоголя [2]. Одним из ключевых факторов развития алкогольного поражения печени является белковая недостаточность, обычно сопутствующая длительной алкогольной интоксикации [3]. В эксперименте было показано, что алкогольная интоксикация в течение 1,5 мес. приводит к обеднению амино-

кислотного фонда печени и увеличению уровней заменимых аминокислот, а также к снижению соотношения аминокислоты с разветвленной углеводородной цепью (АРУЦ)/ароматические аминокислоты (ААК) [4].

К настоящему времени накоплены данные об эффективности использования аминокислот и их композиций в качестве средств метаболической коррекции последствий хронической алкогольной интоксикации [5–8]. Представляется целесообразным использование аминокислотных смесей, предназначенных для устранения метаболического дисбаланса при определенной патологии, т. е. аминокислот направленного действия. В частности, для парентерального введения пациентам с печеночной недостаточностью разработаны специальные смеси на основе АРУЦ [9, 10].

Учитывая имеющиеся сведения относительно успешного использования АРУЦ таурина и триптофана в качестве средств метаболической терапии целого ряда патологических состояний [11–15], актуальной задачей является изучение возможности использования композиций на основе этих аминокислот с целью коррекции нарушений фонда аминокислот печени при различных режимах экспериментальной алкоголизации.

Цель исследования – изучение влияния двух комплексных аминокислотных препаратов на основе аминокислот с разветвленной углеводородной цепью, таурина и триптофана на фонд свободных аминокислот печени при субхронической алкогольной интоксикации.

Материалы и методы исследования. Субхроническую алкогольную интоксикацию (СХАИ) моделировали в экспериментах на 26 белых беспородных крысах-самцах массой 160–180 г. Раствор этанола (25 % об.) вводили внутривентрикулярно равными объемами (14 мл/кг) 2 раза в сутки на протяжении 28 сут. Композицию, состоящую из лейцина, валина, изолейцина и таурина в массовых соотношениях 1:0,25:0,25:0,5, вводили внутривентрикулярно в виде водного раствора через 30 мин после каждого введения этанола на протяжении последних 10 дней алкоголизации. Аналогичным образом вводили композицию из лейцина, валина, изолейцина, таурина и триптофана в массовых соотношениях 1:0,25:0,25:0,5:0,4. Суммарная суточная доза аминокислотных композиций составляла 0,5 и 0,6 г/кг соответственно, этанола – 7 г/кг массы животного. Контрольные животные получали воду внутривентрикулярно в эквивалентных количествах.

Ткань печени гомогенизировали в 0,2 М хлорной кислоте с норлейцином (0,25 мМ) в соотношении 1:10 по массе в качестве внутреннего стандарта. Полученные гомогенаты центрифугировали при 2000 g в течение 15 мин при температуре 5 °С, после чего экстракты отделяли от белкового осадка.

Спектр определяемых соединений включал протеиногенные аминокислоты, орнитин, цитруллин, а также ряд родственных соединений (таурин, α -аминобутират и этаноламин). Анализ аминокислот и их дериватов осуществляли на хроматографе Agilent 1100, используя метод обращенно-фазной хроматографии с предколоночной дериватизацией о-фталевым альдегидом и 3-меркаптопропионовой кислотой в Na-боратном буфере [16].

Статистическую обработку данных проводили с помощью программы StatSoft Statistica 10.0. Применяли методы описательной статистики, сравнение групповых средних производили с помощью параметрического дисперсионного анализа после проверки на корректность его применения. В случае нарушения условий его применимости использовали непараметрический дисперсионный анализ Краскела–Уоллиса. На графиках значения представлены в виде медианы и интерквартильного интервала. Для определения аминокислотного дисбаланса использовали методы линейного дискриминантного анализа.

Результаты и их обсуждение. В печени крыс СХАИ вызвала снижение концентраций треонина, лизина, оксипролина, аргинина и β -аланина (рис. 1, 2), а также содержания незаменимых аминокислот в суммарном пуле свободных аминокислот печени (рис. 3). Пул свободных аминокислот печени формируется за счет гидролиза эндогенных и экзогенных белков [9], поэтому вполне закономерно, что потребление этанола как изокалорийного заменителя пищи вызывает снижение поступления белка в организм и, как следствие, обеднение пула незаменимых аминокислот.

Накапливающийся при введении этанола ацетальдегид тормозит треонинальдолазную реакцию образования глицина, поэтому наблюдаемое снижение уровня треонина может свидетель-

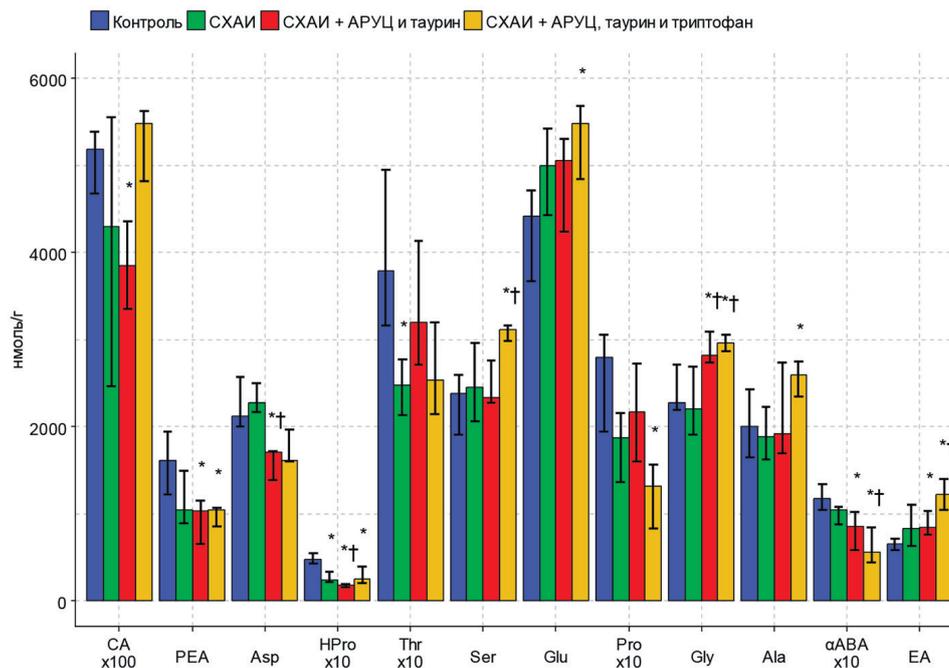


Рис. 1. Содержание свободных аминокислот и их производных в печени крыс после внутрижелудочного введения композиции АРУЦ и таурина, а также композиции АРУЦ, таурина и триптофана на фоне субхронической алкогольной интоксикации. Здесь и на рис. 2 представлены только показатели, уровни которых менялись. Достоверность различий ($p < 0,05$) здесь и на рис. 2, 3 при сравнении с группами: * – контроль; † – СХАИ

Fig. 1. Concentration of free amino acids and their derivatives in the liver of rats after intragastrical injection of composition of BAA and taurine, as well as composition of BAA, taurine and tryptophane under the condition of subchronic alcohol intoxication. Here and in Fig. 2 shows only indicators whose levels have changed. The significance of the differences ($p < 0.05$) here and in Fig. 2, 3 when compared with groups: * – control; † – SHAI

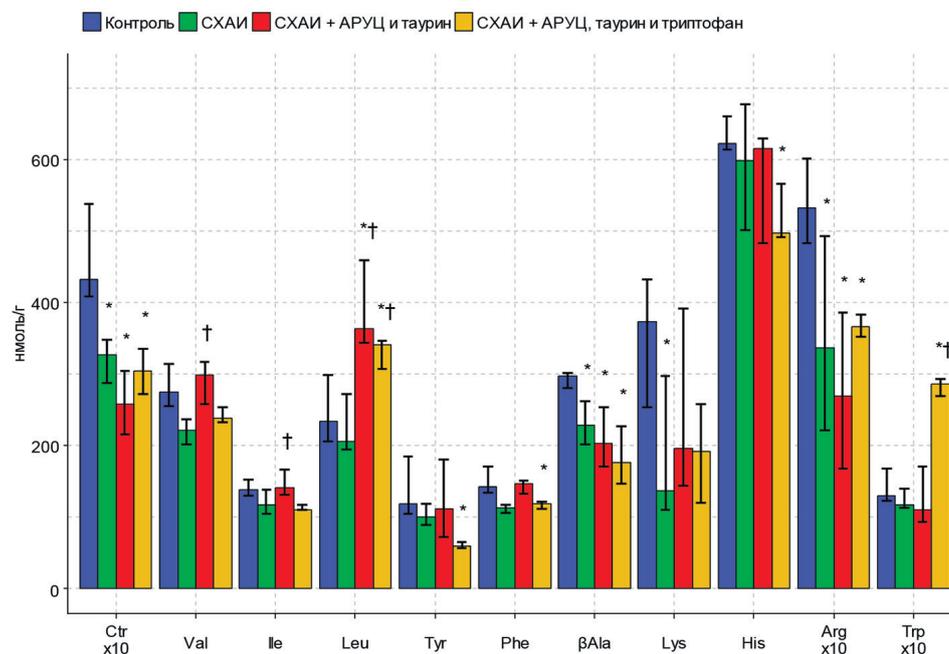


Рис. 2. Содержание свободных аминокислот и их производных в печени крыс после внутрижелудочного введения композиции АРУЦ и таурина, а также композиции АРУЦ, таурина и триптофана на фоне субхронической алкогольной интоксикации

Fig. 2. Concentration of free amino acids and their derivatives in the liver of rats after intragastrical injection of the BAA and taurine composition as well as of the BAA, taurine and tryptophan composition under the subchronic alcohol intoxication condition

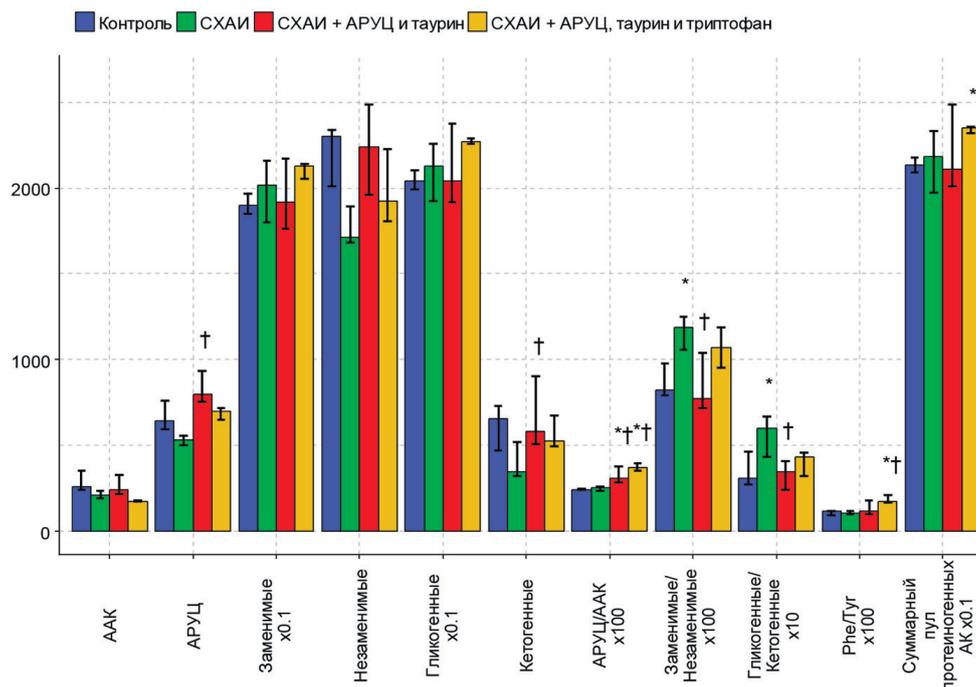


Рис. 3. Влияние внутрижелудочного введения композиций на основе АРУЦ, таурина и триптофана на фоне субхронической алкогольной интоксикации на интегральные показатели фонда свободных аминокислот (нмоль/г) плазмы крови крыс, а также их соотношения

Fig. 3. Effects of intragastric injection of the BAA and taurine composition, as well as of the BAA, taurine and tryptophan composition under the subchronic alcohol intoxication condition on the integral indices of the pool of amino acids (nmol/g) and their ratios

ствовать об активации альтернативных путей его деградации (вероятнее всего, дегидратазного пути до α -кетомасляной кислоты или декарбоксилирования).

Анализ корреляционных связей между уровнями определяемых аминокислот позволяет предположить возникновение нарушений их метаболизма в печени при СХАИ. Положительная корреляция между уровнями глицина и серина может указывать на повышение активности взаимопревращений серина и глицина (табл. 1). Снижение уровня лизина, наблюдаемое в аналогичных условиях в плазме [8], можно объяснить связыванием образующегося из экзогенного этанола ацетальдегида с аминогруппами лизина. Положительная корреляция между уровнем серина, с одной стороны, и уровнями продуктов цистина, таурина и цистеата – с другой говорит об ускорении катаболизма серосодержащих аминокислот при СХАИ (табл. 1).

Обращает на себя внимание нарушение при СХАИ сопряженности изменений уровня лейцина и концентраций ААК (табл. 1). Скорее всего, действие алкоголизации на уровень лейцина в печени опосредовано через влияние на метаболизм последнего, а не на общие для АРУЦ и ААК транспортные системы. Участие АРУЦ в элиминации аммиака также не должно влиять в этой ситуации на их уровень вследствие отсутствия зависимости между их уровнями и содержанием глутамата и глутамина.

Введение на фоне субхронической алкоголизации композиции АРУЦ и таурина предотвращало снижение уровня лизина в печени (рис. 2). В то же время увеличивались концентрации глицина, лейцина и этаноламина, а также снижались уровни аспартата, цитрулина, фосфоэтанолламина и α -аминомасляной кислоты. Наблюдалось также повышение уровней валина и изолейцина по сравнению с таковыми у животных, не получавших аминокислотную композицию на фоне СХАИ (рис. 1, 2).

Анализируя корреляционные зависимости между уровнями свободных аминокислот печени, можно выделить группу соединений, положительные корреляции между которыми сохраняются как при СХАИ, так и при введении на фоне алкоголизации комплекса АРУЦ и таурина. Это ААК (тирозин и фенилаланин), метионин и АРУЦ (за исключением лейцина). Можно предполо-

жить, что метаболизм этих соединений при СХАИ, а также при введении на ее фоне исследуемой композиции не претерпевает существенных изменений, несмотря на то что уровни некоторых из них изменялись. Следует отметить также нормализацию корреляционных коэффициентов этих соединений с орнитином. Как известно, степень коррелированности уровней свободных аминокислот и орнитина позволяет оценить участие этих аминокислот в цикле мочевинообразования [6]. С этих позиций можно предположить нормализующее действие композиции на процессы обезвреживания аммиака (несмотря на снижение уровней цитруллина и аргинина).

Таблица 1. Коэффициенты корреляции между уровнями АРУЦ, ААК, ССА, глицина, серина и орнитина в печени крыс

Table 1. Coefficients of correlation between the BCAA, AAA, SCA, glycine, serine and ornithine levels in the liver of rats

Показатель	Контроль	СХАИ	СХАИ + АРУЦ и таурин	СХАИ + АРУЦ, таурин и триптофан
Gly-Ser	-0,044	0,783*	-0,081	-0,181
Met-Ser	-0,858*	-0,879*	0,600	0,14
Cys-Ser	-0,486	0,691	0,221	0,906*
CA-Ser	0,498	0,919*	0,190	-0,414
Tau-Ser	-0,408	0,926*	0,297	0,969*
Tau-Cys	0,991*	0,881*	0,962*	0,91*
Tau-CA	0,287	0,929*	0,584	-0,434
Met-CA	-0,929*	-0,837*	-0,548	0,826
Met-Val	0,886*	0,629	0,859*	0,128
Met-Tau	0,272	-0,708	-0,306	0,053
Met-Cys	0,373	-0,428	-0,278	0,458
Ile-Met	0,946*	0,892*	0,976*	0,959*
Ile-Val	0,934*	0,944*	0,959*	0,737
Leu-Met	0,972*	0,832*	0,858*	0,549
Leu-Val	0,889*	0,896*	0,983*	0,747
Leu-Ile	0,973*	0,956*	0,929*	0,92*
Tyr-Met	0,938*	0,857*	0,918*	0,981*
Tyr-Val	0,859*	0,917*	0,846*	0,292
Tyr-Ile	0,983*	0,832*	0,969*	0,973*
Tyr-Leu	0,945*	-0,032	0,457	-0,034
Phe-Val	0,968*	0,984*	0,996*	0,804
Phe-Met	0,88*	0,740	0,825*	0,608
Phe-Ile	0,925*	0,916*	0,910*	0,792
Phe-Leu	0,821*	0,001	0,664	0,149
Phe-Tyr	0,941*	0,915*	0,818*	0,688
Orn-Val	0,792*	0,493	0,846*	-0,351
Orn-Met	0,921*	0,031	0,911*	-0,048
Orn-Ile	0,881*	0,589	0,929*	-0,143
Orn-Leu	0,935*	0,345	0,886*	-0,452
Orn-Tyr	0,95*	0,332	0,956*	-0,173
Orn-Phe	0,823*	0,525	0,878*	-0,150

Примечание. * – достоверные ($p < 0,05$) значения r .

Повышение уровней АРУЦ в печени (в первую очередь лейцина) может быть результатом транспорта в гепатоциты входящих в состав препарата аминокислот и сохранением повышенного их уровня через час после последнего введения (рис. 2, 3). Ослабление отрицательных (метионин-цистеат и метионин-серин) и положительных (таурин-серин и таурин-цистеат) корреляций (табл. 1) может объясняться торможением путей деградации метионина и цистеина (как известно, серин является основным источником углеродного скелета последнего).

Повышение уровня глицина, скорее всего, является следствием снижения его использования в синтезе парных желчных кислот (рис. 1). Очень вероятно также, учитывая повышенный уровень серина, усиление наработки глицина в ходе оксиметилтрансферазной реакции. Снижение уровня фосфоэтаноламина (рис. 1) может свидетельствовать о мембранстабилизирующем действии композиции АРУЦ и таурина на фоне СХАИ, а снижение уровня α -аминоасляной кислоты и повышение индекса Фишера (соотношение концентраций АРУЦ к ААК) в печени (рис. 1, 3) – о потенциальном гепатопротекторном действии препарата [6].

Введение композиции АРУЦ и таурина нормализует соотношение заменимых и незаменимых аминокислот (рис. 3) в печени. Так как большинство кетогенных аминокислот являются незаменимыми, то закономерным является рост соотношения гликогенных и кетогенных аминокислот в печени при СХАИ и нормализация этого соотношения под действием композиции АРУЦ и таурина.

При внутривенном введении на фоне СХАИ аминокислотной композиции, содержащей АРУЦ, таурин и триптофан, в фонде свободных аминокислот печени отмечалась нормализация концентраций треонина и лизина, снижение уровней фосфоэтаноламина, тирозина, β -аланина, гистидина, повышение содержания глутамата, серина, глицина, аланина, лейцина, этаноламина, триптофана (рис. 1, 2). Кроме того, введение данной аминокислотной композиции сопровождалось нормализацией соотношения заменимых и незаменимых аминокислот, а также повышением соотношения АРУЦ/ААК (рис. 3). Повышение уровней АРУЦ и триптофана в печени может быть результатом транспорта в гепатоциты входящих в состав композиции аминокислот. Введение композиции АРУЦ, таурина и триптофана вызвало нарушение большинства корреляций как внутри пулов АРУЦ и ААК, так и между этими пулами (табл. 1). Исчезновение положительной корреляции тирозин–фенилаланин позволяет предположить торможение синтеза тирозина, что объясняет снижение его уровня в печени (рис. 2).

Для общей характеристики изменений пула свободных аминокислот в печени при СХАИ и введении исследуемых композиций был применен линейный дискриминантный анализ уровней аминокислот и их производных. Применение прямой пошаговой процедуры позволило установить показатели, которые можно считать наиболее значимыми (т. е. вносящими наибольший вклад в общую вариацию). Согласно значению критерия Фишера, это были уровни лейцина, фенилаланина, триптофана, глицина и α -аминобутирата (табл. 2).

Таблица 2. Результаты анализа дискриминантных функций

Table 2. Analysis results of the discriminant functions

Показатель	Лямбда Уилкса	Частная лямбда Уилкса	χ^2	$F_{\text{искл}}(3,17)$	p	Коэффициент детерминации
Leu	0,061	0,122	54,5	40,8	0,000	0,906
Phe	0,037	0,198	64,0	22,9	0,000	0,904
Trp	0,029	0,251	68,6	16,9	0,000	0,633
Gly	0,020	0,369	76,1	9,68	0,000	0,543
α ABA	0,012	0,579	84,9	4,12	0,022	0,407

Следует отметить отсутствие среди наиболее значимых показателей таурина – одного из основных компонентов исследуемых композиций. Вероятно, это объясняется наличием механизма поддержания его уровня за счет ускорения синтеза таурохолатов, что согласуется с увеличением концентрации глицина после введения композиций как следствие снижения участия глицина в синтезе парных желчных кислот. Соответственно, уровень таурина к моменту регистрации успел вернуться к контрольным значениям, что подтверждается отсутствием значимых сдвигов его концентрации между группами.

Проведен канонический анализ, в ходе которого получена проекция данных экспериментальных групп на плоскость двух главных компонент (рис. 4). Как следует из представленных данных, эффекты аминокислотных композиций в отношении фонда аминокислот печени более выражены, чем эффекты СХАИ.

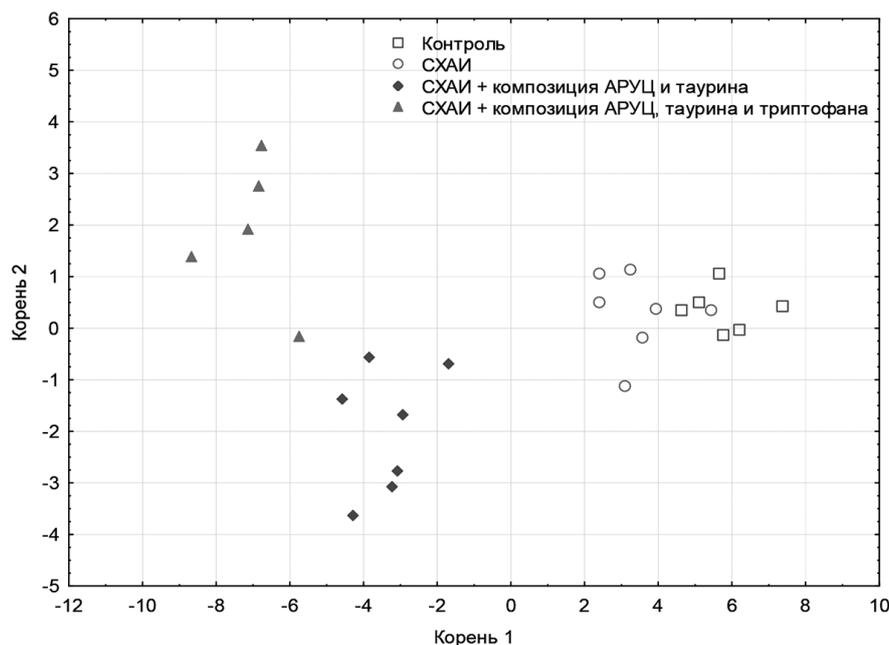


Рис. 4. Проекция экспериментальных групп на плоскость двух главных компонент и векторов стандартизованных канонических переменных

Fig. 4. Projection of the experimental group onto the plane of two main components and the vectors of standardized canonical variables

Выводы

1. Субхроническая интоксикация алкоголем вызывает дисбаланс в фонде свободных аминокислот печени, проявляющийся снижением уровней треонина, лизина, оксипролина, аргинина, β -аланина, а также обеднением пула незаменимых аминокислот.

2. Внутривенное введение композиции АРУЦ и таурина нормализует соотношение заменимых и незаменимых аминокислот, соотношение гликогенных и кетогенных аминокислот, активизирует реакции утилизации азота, повышает индекс Фишера.

3. Эффекты композиции, состоящей из АРУЦ, таурина и триптофана, в отношении фонда аминокислот печени в целом схожи с эффектами аминокислотной композиции, не содержащей триптофана. Вместе с тем данная аминокислотная композиция вызывает более существенные сдвиги в фонде аминокислот печени, включая повышение уровня триптофана.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список использованных источников

- Lieber, C. S. Hepatic, metabolic, and nutritional disorders of alcoholism: from pathogenesis to therapy / C. S. Lieber // *Crit. Rev. Clin. Lab. Sci.* – 2000. – Vol. 37, N 6. – P. 551–584. <https://doi.org/10.1080/10408360091174312>
- Alcoholic liver disease / I. Bouneva [et al.] // *Hospital Physician.* – 2003. – Vol. 57, N 3. – P. 31–38.
- Halsted, C. H. Nutrition and alcoholic liver disease / C. H. Halsted // *Semin. Liver Dis.* – 2004. – Vol. 24, N 3. – P. 289–304. <https://doi.org/10.1055/s-2004-832941>
- Шейбак, В. М. Обмен свободных аминокислот и КоА при алкогольной интоксикации / В. М. Шейбак. – Гродно : Гр. гос. мед. ин-т, 1998. – 152 с.
- Метаболическая терапия при алкоголизме / В. В. Лелевич [и др.] // *Мед. новости.* – 2001. – № 2. – С. 12–16.
- Островский, Ю. М. Аминокислоты в патогенезе, диагностике и лечении алкоголизма / Ю. М. Островский, С. Ю. Островский. – Минск : Наука и техника, 1995. – 278 с.
- Гепатопротективные эффекты аминокислот при алкогольном поражении печени / Ю. Е. Разводовский [и др.] // *Актуальные вопросы гепатологии: экспериментальная гепатология, терапевтическая гепатология, хирургическая гепатология : 4-й симп. гепатологов Беларуси, Гродно 27–28 сент. 2000 г. : тез. докл. / редкол. : В. М. Цыркунов (отв. ред.) [и др.] ; под ред. В. М. Цыркунова.* – Гродно, 2000. – С. 54.
- Влияние композиции аминокислот с разветвленной углеводородной цепью, триптофана и таурина на обмен аминокислот в экспериментальных моделях алкоголизма / В. Ю. Смирнов [и др.] // *Укр. биохим. журн.* – 2003. – Т. 75, № 4. – С. 101–107.

9. Нефёдов, Л. И. Аминокислоты и их производные в патогенезе и лечении поражений печени / Л. И. Нефёдов, Н. Д. Маслакова, В. М. Цыркунов // *Вест. Акад. наук Беларусі. Сер. біял. навук.* – 1997. – № 2. – С. 39–48.
10. Charlton, M. Branched-chain amino acid enriched supplements as therapy for liver disease / M. Charlton // *J. Nutrition.* – 2006. – Vol. 136, N 1. – P. 295S–298S. <https://doi.org/10.1093/jn/136.1.295s>
11. Разводовский, Ю. Е. Влияние L-триптофана на фонд центральных нейроактивных соединений при синдроме отмены этанола / Ю. Е. Разводовский, Е. М. Дорошенко // *Нейрохимия.* – 2004. – Т. 21, № 1. – С. 44–51.
12. Разводовский, Ю. Е. Влияние таурина на содержание в ЦНС нейроактивных соединений при синдроме отмены этанола / Ю. Е. Разводовский, Е. М. Дорошенко // *Эксперим. и клин. фармакология.* – 2007. – Т. 70, № 5. – С. 38–43.
13. Branched-chain amino acid enriched-diet given simultaneously with ethanol partially prevents morphological and biochemical changes in the liver / R. Farbiszewski [et al.] // *Patol. Pol.* – 1990. – Vol. 41, N 4. – P. 183–186.
14. Chesney, R. W. Taurine: its biological role and clinical implications / R. W. Chesney // *Adv. Paediatr.* – 1985. – Vol. 32. – P. 1–42.
15. Effect of taurine on alcoholic liver disease in rats / G. Wu [et al.] // *Amino Acids.* – 2009. – Vol. 36, N 3. – P. 457–464. <https://doi.org/10.1007/s00726-008-0101-2>
16. Современные проблемы биохимии. Методы исследований / Е. В. Барковский [и др.] – Минск : Вышэйш. школа, 2013. – 490 с.

References

1. Lieber C. S. Hepatic, metabolic, and nutritional disorders of alcoholism: from pathogenesis to therapy. *Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences*, 2000, vol. 37, no. 6, pp. 551–584. <https://doi.org/10.1080/10408360091174312>
2. Bouneva I., Abou-Assi S., Heuman D. M., Mihas A. A. Alcoholic liver disease. *Hospital Physician*, 2003, vol. 57, no. 3, pp. 31–38.
3. Halsted C. H. Nutrition and alcoholic liver disease. *Seminars in Liver Disease*, 2004, vol. 24, no. 3, pp. 289–304. <https://doi.org/10.1055/s-2004-832941>
4. Sheibak V. M. *Exchange of free amino acids and coenzyme A under alcohol intoxication.* Grodno, Grodno State Medical Institute, 1998. 152 p. (in Russian).
5. Lelevich V. V., Sheibak V. M., Maksimchuk V. P., Kozlovskii A. V., Chirkin A. A. Metabolic therapy of alcoholism. *Meditsinskie novosti* [Medical news], 2001, no. 2, pp. 12–16 (in Russian).
6. Ostrovskii Yu. M., Ostrovskii S. Yu. *Amino acids in the pathogenesis, diagnostic and treatment of alcoholism.* Minsk, Nauka i tekhnika Publ., 1995. 278 p. (in Russian).
7. Razvodovskii Yu. E., Doroshenko E. M., Prokopchik N. I., Smirnov V. Yu., Ostrovskii S. Yu. Hepatoprotective effects of aminoles under alcohol damage of the liver. *Aktual'nye voprosy gepatologii: eksperimental'naya gepatologiya, terapevticheskaya gepatologiya, khirurgicheskaya gepatologiya: 4-i simpozium gepatologov Belarusi, Grodno 27–28 sentyabrya 2000 goda: tezisy dokladov* [Current issues of hepatology: experimental hepatology, therapeutic hepatology, surgical hepatology: 4th International symposium of belarusian hepatologists, Grodno, September 27–28, 2000]. Grodno, 2000, p. 54 (in Russian).
8. Smirnov V. Yu., Razvodovskii Yu. E., Doroshenko E. M., Ostrovskii S. Yu. The effect of the composition of amino acids with a branched hydrocarbon chain, tryptophan and taurine on the exchange of amino acids in experimental models of alcoholism. *Ukrainskii biokhimicheskii zhurnal* [Ukrainian biochemical journal], 2003, vol. 75, no. 4, pp. 101–107 (in Russian).
9. Nefedov L. I., Maslakova N. D., Tsyrukunov V. M. Amino acids and their derivatives in the pathogenesis and treatment of liver damages. *Vesti Akademii navuk Belarusi. Seryya biyalagichnykh navuk = Proceedings of the Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 1997, no. 2, pp. 39–48 (in Russian).
10. Charlton, M. Branched-chain amino acid enriched supplements as therapy for liver disease. *Journal of Nutrition*, 2006, vol. 136, no. 1, pp. 295S–298S. <https://doi.org/10.1093/jn/136.1.295s>
11. Razvodovskii Yu. E., Doroshenko E. M. The effects of L-tryptophan on the pool of central neuroactive compounds under alcohol withdrawal syndrome. *Neirokhimiya* [Neurochemistry], 2004, vol. 21, no. 1, pp. 44–51 (in Russian).
12. Razvodovskii Yu. E., Doroshenko E. M. The effect of taurine on the concentration of the central neuroactive compounds under alcohol withdrawal syndrome. *Eksperimental'naya i klinicheskaya farmakologiya* [Experimental and clinical pharmacology], 2007, vol. 70, no. 5, pp. 38–43 (in Russian).
13. Farbiszewski R., Chyczewski L., Hołownia A., Pawłowska D., Chwiećko M. Branched-chain amino acid enriched-diet given simultaneously with ethanol partially prevents morphological and biochemical changes in the liver. *Patologia Polska*, 1990, vol. 41, no. 4, pp. 183–186.
14. Chesney R. W. Taurine: its biological role and clinical implications. *Advances in Paediatrics*, 1985, vol. 32, pp. 1–42.
15. Wu G., Yang J., Sun C., Luan X., Shi J., Hu J. Effect of taurine on alcoholic liver disease in rats. *Amino Acids*, 2009, vol. 36, no. 3, pp. 457–464. <https://doi.org/10.1007/s00726-008-0101-2>
16. Barkovskii E. V., Bokut' S. B., Borodinskii A. N., Buko V. U., Valentyukevich O. I., Gritsuk A. I. [et al.]. *Contemporary problems of biochemistry. Methods of investigation.* Minsk, Vysheishaya shkola Publ., 2013. 490 p. (in Russian).

Информация об авторах

Разводовский Юрий Евгеньевич – заведующий отделом. Институт биохимии биологически активных соединений НАН Беларуси (ул. Горького, 50, 230009, г. Гродно, Республика Беларусь). E-mail: razvodovsky@tut.by

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

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

Information about the authors

Yury E. Razvodovsky – Head of the Department. Institute of Biochemistry of Biologically Active Compounds of the National Academy of Sciences of Belarus (50, Gorky Str., 230009, Grodno, Republic of Belarus). E-mail: razvodovsky@tut.by

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

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

ISSN 1814-6023 (Print)

ISSN 2524-2350 (Online)

UDC 617.51/.52:616.2]-073.756.8

<https://doi.org/10.29235/1814-6023-2020-17-3-346-352>

Received 08.04.2020

Sergey P. Rubnikovich¹, Irina S. Abelskaya¹, Yuliya L. Denisova²,
Sergey V. Sirak³, Vladimir G. Shishov¹

¹Belarusian Medical Academy of Postgraduate Education, Minsk, Republic of Belarus

²Belarusian State Medical University, Minsk, Republic of Belarus

³Stavropol State Medical University, Stavropol, Russian Federation

PROSPECTS OF APPLICATION OF CONE BEAM COMPUTED TOMOGRAPHY FOR ANALYZING UPPER RESPIRATORY TRACT PATHOLOGIES IN PATIENTS WITH DENTITION SYSTEM DISEASES

Abstract. The goal of the study was to analyze the upper respiratory tract condition indicators obtained by means of cone beam computed tomography (CBCT) for patients with dentition system diseases and obstructive sleep apnoea syndrome.

Patients were divided into 3 study groups. The control group (the 1st study group) included the CBCT data obtained for 33 healthy patients. The 2nd study group included the CBCT data obtained for 136 patients with dentition system diseases (partial secondary edentia combined with chronic generalized periodontitis) without sleep disorder signs. The 3rd study group included the CBCT data obtained for 70 patients with partial secondary edentia combined with deep distal occlusion and obstructive sleep apnoea syndrome (OSAS).

The CBCT method using the proposed diagnosis criteria made it possible to identify not only dentition system diseases, but also the dysfunction of the upper respiratory tract, in particular the OSAS causes. It was found with confidence that the reduction of the upper respiratory tract diagnostic indicators by 40 % or more, as compared to the regulatory indicators of healthy patients, led to the dysfunction of the respiratory tract and the apnoea development. Deep distal occlusion and secondary edentia conditioned the presence of the upper respiratory tract concave configuration and the localization of the minimum cross-sectional area below the occlusion plane, which increases the probability of development and progression of the obstructive sleep apnoea syndrome.

Keywords: sleep apnoea, cone beam computed tomography, periodontitis, edentia, upper respiratory tract

For citation: Rubnikovich S. P., Abelskaya I. S., Denisova Yu. L., Sirak S. V., Shishov V. G. Prospects of application of cone beam computed tomography for analyzing upper respiratory tract pathologies in patients with dentition system diseases. *Vesti Natsyyanal'noi akademii navuk Belarusi. Seriya meditsinskikh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2020, vol. 17, no. 3, pp. 346–352. <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2020-17-3-346-352>

С. П. Рубникович¹, И. С. Абельская¹, Ю. Л. Денисова², С. В. Сирак³, В. Г. Шишов¹

¹Белорусская медицинская академия последипломного образования, Минск, Республика Беларусь

²Белорусский государственный медицинский университет, Минск, Республика Беларусь

³Ставропольский государственный медицинский университет, Ставрополь, Российская Федерация

ПЕРСПЕКТИВЫ ПРИМЕНЕНИЯ КОНУСНО-ЛУЧЕВОЙ КОМПЬЮТЕРНОЙ ТОМОГРАФИИ ДЛЯ ОЦЕНКИ ПАТОЛОГИИ ВЕРХНИХ ДЫХАТЕЛЬНЫХ ПУТЕЙ У ПАЦИЕНТОВ С ЗАБОЛЕВАНИЯМИ ЗУБОЧЕЛЮСТНОЙ СИСТЕМЫ

Аннотация. С применением конусно-лучевой компьютерной томографии (КЛКТ) изучены показатели состояния верхних дыхательных путей пациентов с заболеваниями зубочелюстной системы и синдромом обструктивного апноэ сна.

Пациенты были разделены на три группы. Контрольная группа (группа 1) включала в себя данные КЛКТ, полученные от 33 здоровых пациентов, группа 2 – данные КЛКТ, полученные от 136 пациентов с заболеваниями зубочелюстной системы (частичной вторичной адентией в сочетании с хроническим генерализованным периодонтитом) без признаков расстройств сна, группа 3 – данные КЛКТ, полученные от 70 пациентов с частичной вторичной адентией в сочетании с глубоким дистальным прикусом и синдромом обструктивного апноэ сна.

Метод КЛКТ с использованием предложенных диагностических критериев позволяет выявить не только стоматологические заболевания, но и нарушения в функционировании верхних дыхательных путей, в частности причины возникновения апноэ сна. Снижение показателей диагностических критериев верхних дыхательных путей на 40 % и более по сравнению с нормативными показателями здоровых пациентов достоверно значимо приводит к нарушении нормального функционирования дыхательных путей и развитию апноэ. Глубокий дистальный прикус и вторичная адентия обуславливают наличие вогнутой конфигурацией верхних дыхательных путей и расположение минимальной площади поперечного сечения ниже окклюзионной плоскости, что достоверно повышает вероятность развития и прогрессирования синдрома обструктивного апноэ сна.

Ключевые слова: апноэ сна, конусно-лучевая компьютерная томография, периодонтит, адентия, верхние дыхательные пути

Для цитирования: Перспективы применения конусно-лучевой компьютерной томографии для оценки патологии верхних дыхательных путей у пациентов с заболеваниями зубочелюстной системы / С. П. Рубникович [и др.] // Вест. Нац. акад. наук Беларусі. Сер. мед. навук. – 2020. – Т. 17, № 3. – С. 346–352 (in English). <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2020-17-3-346-352>

Introduction. The problem of interdisciplinary relationship between dental and otorhinolaryngology problems is very urgent due to insufficient scientific justification of the methods used for their diagnosis and treatment. Hence, studies of these problems are of high medico-social and economic significance [1–4].

Cone beam computed tomography (CBCT) has become widely used in medicine in the recent time, which significantly increased the capacity for X-ray research. This is a contemporary tomography procedure, allowing minimum irradiation and obtaining maximum information. The cone beam tomography is the best method for investigation of different dentition system diseases, because it enables 3D modeling of the jaw. Many useful CBCT algorithms have been developed. For example, researches are performed to identify not only dentition system pathologies, but also the risks of dysfunction of the upper respiratory tract (URT). Analysis of the reference sources has demonstrated that diagnostic investigations of the upper respiratory tract condition in patients with dentition system diseases using the CBCT indicators present a substantial scientific and practical interest for medical specialists and are very important for the researchers [5–8].

High frequency of dental disorders leads to premature loss of teeth and morphological changes in the dentition structure, resulting not only in functional dentition disorders, but also in structural pathologies of the oropharynx region, in particular, causing its misconfiguration [9–11].

3D imaging is a highly efficient method for visualization and identification of the configuration, *inter alia*, the diffusion-induced narrowing (narrowing of a clearance that is greater in length) or local narrowing of the respiratory tract. Reducing the radius of the airways increases the resistance of the airways, whereas greater inhalation efforts are needed to maintain the airflow. Increased inhalation efforts tend to boost the differential pressure between the mouth cavity and the alveoli, which results in apnoea. Currently, dentists can perform screening of patients with dentition and facial diseases in order to identify dysfunctions of the upper respiratory tract based on CBCT data [12–20].

The goal of the study was to analyse the upper respiratory tract condition indicators, obtained by means of CBCT in patients with dentition system diseases and the obstructive sleep apnoea syndrome.

Materials and methods of study. The study was performed at the Chair of Prosthetic Dentistry and Orthodontics with a Course of Paediatric Dentistry of the Belarusian Medical Academy of Postgraduate Education.

The following requirements were specified in order to use CBCT data in the study. Patients aged 45–55 years who had partial edentia and a deep distal occlusion and were diagnosed as having generalized chronic periodontitis and the obstructive sleep apnoea syndrome were selected for the study.

The patients were divided into 3 study groups.

The control group (the 1st study group) included CBCT data obtained from 33 healthy patients without dentition system diseases, who visited dentists for prevention purposes.

The 2nd study group included CBCT data obtained from 136 patients with dentition system diseases (partial secondary edentia combined with generalized chronic periodontitis) without signs of sleep disorders.

The 3rd study group included CBCT data obtained from 70 patients with partial secondary edentia combined a deep distal occlusion and the obstructive sleep apnoea syndrome, confirmed by a home sleep test (HST).

All groups were comparable by age ($p = 0.084–0.092$) and sex ($\chi^2 = 0.33–0.64$, $p = 0.098–0.112$).

The diagnostic criteria for the upper respiratory tract were investigated, such as:

- the total volume of the respiratory tract in the oropharynx region;
- the cross-sectional area of the oropharynx region;
- the minimum cross-sectional area;

the anteroposterior and lateral dimensions of the minimum cross-sectional area;
 the localization of the minimum cross-sectional area in the upper and lower oropharynx regions;
 the configuration: 3D reconstruction of the investigated respiratory tract (elliptical, square, concave, or perforated).

The study did not include patients who had: total edentia (the position of the tongue may change after removal of the denture from the mouth); malocclusion (including mandibular retrognathia and prognathism); cardiovascular diseases, including previously reported myocardial infarction or angina pectoris; renal diseases; lung problems; previous stroke; anxiety/panic disorders; neurological disorders, such as epilepsy or narcolepsy; restless legs syndrome; drug abuse/addiction; diabetes mellitus; liver disease; alcoholism or excessive use of caffeine-containing drinks and tobacco products.

The patients were scanned by means of cone beam computed tomography in the upright position with the natural head posture, using a cephalostat. Cone beam computed tomography was performed by means of ProMax 3D Mid (Planmeca, Finland), applying a conical X-ray beam with high resolution.

The findings were statistically processed using the statistical analysis package *Statistica* for Windows 10.0 (StatSoft Inc., Talca, USA).

The distribution was assessed according to the Shapiro-Wilk test of normality. All variables had normal distribution. The differences between the groups were evaluated on the basis of Student's *t*-test; the qualitative data were compared using Pearson's χ^2 criterion; the differences between the groups by the frequency of the studied sign were determined on the basis of Fisher's ratio test; and the multiple factor dispersion analysis was used to identify the dependence. The boundary statistical significance level was taken at $p < 0.05$.

Results and discussions. The studies helped identify dynamic changes of the total volume of the respiratory tract in the patients from the study groups (Tab. 1). Authentic changes of the total volume of the respiratory tract in relation to the control group of patients were noted in the 1st and 2nd study groups. Thus, it was found that the total volume of the respiratory tract was reduced by 15.16 % ($p < 0.01$) in patients from the 2nd study group and by 59.16 % in patients from the 3rd study group ($p < 0.001$). Changes were found in the cross-sectional area of the upper respiratory tract. In the 2nd study group, this indicator was reduced definitely by 15.32 % ($p < 0.01$), and in the 3rd study group by 45.86 % ($p < 0.001$), as compared to the control group (Tab. 2).

Table 1. The upper respiratory tract parameters in the patients from the control group (1) and the study groups (2, 3) according to CBCT data

Parameter	Group	M ± SE	<i>p</i>
Total volume of the respiratory tract, cm ³	1	14.25 ± 0.76	
	2	12.09 ± 0.27*	<0.01
	3	5.82 ± 0.17**	<0.001
Cross-sectional area, mm ²	1	2617.71 ± 73.55	
	2	2216.18 ± 37.94*	<0.01
	3	1417.34 ± 38.15**	<0.001
Minimum cross-sectional area (MCSA), mm ²	1	296.45 ± 3.21	
	2	215.78 ± 6.73*	<0.01
	3	162.76 ± 7.21**	<0.001
Anteroposterior dimension of MCSA, mm	1	10.4 ± 0.28	
	2	8.40 ± 0.16*	<0.01
	3	3.38 ± 0.13**	<0.001
Lateral dimension of MCSA, mm	1	29.69 ± 0.73	
	2	22.57 ± 1.14*	<0.01
	3	17.42 ± 2.08*	<0.01

Note. * – the indicators have a truly significant difference from the indicators in the control group (<0.01), ** – the indicators have a truly significant difference from the indicators in the control group (<0.001).

Table 2. CBCT data on the minimum cross-sectional area localization in the oropharynx region of the study and the control group patients

Patient group	MCSA localization in the oropharynx region, %*	
	upper	lower
1st control group	51.5	48.5
2nd study group	41	59
3rd study group	20	80

Note. Data were calculated based on the premise that the number of patients in each group was taken as 100 %.

The minimum cross-sectional area of the airways in the 2nd and 3rd study groups was found with certainty to be smaller than in the control group by 19.92 % ($p < 0.01$) and 45.09 % ($p < 0.001$), respectively. Also, it was found that the anteroposterior and lateral dimensions of the minimum cross-sectional area of the respiratory tract were reduced in the patients from the 2nd group by 19.23 and 23.98 % ($p < 0.01$), respectively, and in the patients from the 3rd study group by 64.50 and 41.32 % ($p < 0.001$), respectively, as compared to the same indicators in the control group.

Analysis of the CBCT data for the patients with dentition system diseases (partial secondary edentia combined with chronic generalized periodontitis, as well as partial secondary edentia combined with deep distal occlusion and the obstructive sleep apnoea syndrome) identified disorders of the upper respiratory tract. The most significant reduction of the total volume of the respiratory tract, the cross-sectional area and the minimum cross-sectional area (by more than 40 %, $p < 0.001$) was identified in patients who previously had dentition system diseases combined with deep distal occlusion and the obstructive sleep apnoea syndrome.

Analysis of the factors that have the most significant adverse effect on the upper respiratory tract condition demonstrated that the presence of a deep distal occlusion resulted in a concave configuration of the URT and the localization of the minimum cross-sectional area below the occlusion plane in the lower region of the oropharynx, which significantly increased the probability of development and progression of the obstructive sleep apnoea syndrome ($F = 7.67-7.51$, $p = 0.019-0.025$) (Fig. 1–3).

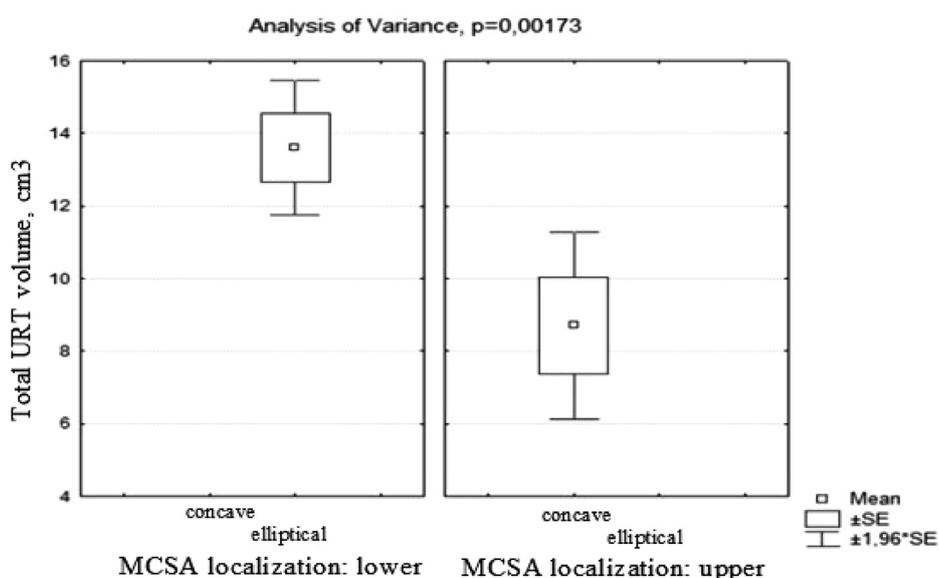


Fig. 1. The predictors corresponding to the highest probability of OSAS development

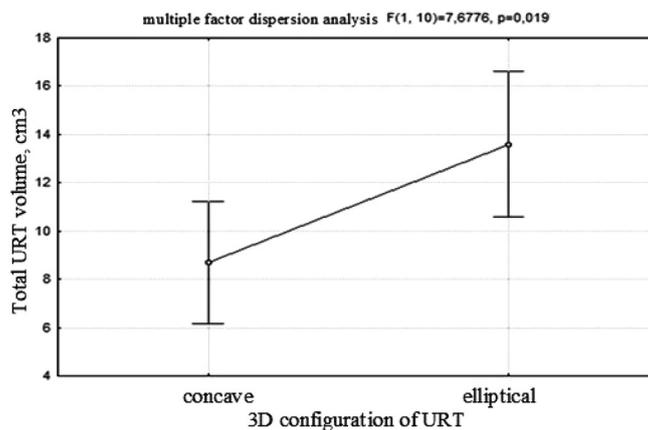


Fig. 2. The effect of the upper respiratory tract configuration on its total volume

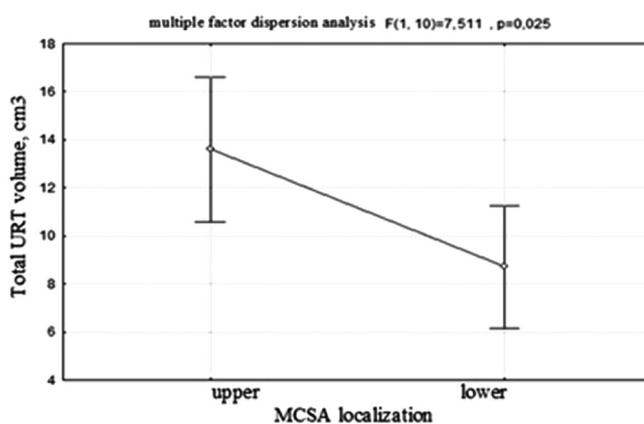


Fig. 3. The effect of the minimum cross-sectional area localization in the oropharynx lower region on the total upper respiratory tract volume

Conclusions

1. The CBCT method using the proposed diagnosis criteria made it possible to identify not only dentition system diseases, but also dysfunction of the upper respiratory tract, in particular, the causes of OSAS development.

2. It was found with confidence that the reduction of the indicators of URT diagnostic criteria by 40 % or more ($p < 0.01$ – 0.001), as compared to the regulatory indicators of healthy patients, led to dysfunction of the respiratory tract and development of apnoea.

3. Deep distal occlusion and secondary edentia conditioned the presence of the URT concave configuration and the minimum cross-sectional area localization below the occlusion plane, which increased with certainty the probability of development and progression of the obstructive sleep apnoea syndrome ($F = 7.67$, $p = 0.019$ – 0.025).

Conflict of interests. The authors declared no conflict of interests.

References

1. Kolyadich Zh. V., Kalinkin A. L. Obstructive sleep apnea syndrome: a view of an otorhinolaryngologist and sleep specialist. *Terapiya* [Therapy], 2016, no. 1, pp. 42–50 (in Russian).
2. Zatoloka D. A., Furmanchuk D. A., Kolyadich Zh. V., Tishkevich E. S., Andrianova T. D., Frolov Yu. Yu., Makarin-Kibak A. S. The modern approaches to diagnostics of obstructive sleep apnoea syndrome. *Vestnik otorinolaringologii* [Bulletin of otorhinolaryngology], 2013, no. 1, pp. 58–60 (in Russian).
3. Holty J.-E., Guilleminault C. Maxillomandibular advancement for the treatment of obstructive sleep apnea: a systematic review and meta-analysis. *Sleep Medicine Reviews*, 2010, vol. 14, no. 5, pp. 287–297. <https://doi.org/10.1016/j.smrv.2009.11.003>

4. Susarla S. M., Thomas R. J., Abramson Z. R., Kaban L. B. Biomechanics of the upper airway: changing concepts in the pathogenesis of obstructive sleep apnea. *International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 2010, vol. 39, no. 12, pp. 1149–1159. <https://doi.org/10.1016/j.ijom.2010.09.007>
5. Schwab R. J., Pasirstein M., Pierson R., Mackley A., Hachadoorian R., Arens R., Maislin G., Pack A. I. Identification of upper airway anatomic risk factors for obstructive sleep apnea with volumetric magnetic resonance imaging. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 2003, vol. 168, no. 5, pp. 522–530. <https://doi.org/10.1164/rccm.200208-866oc>
6. Park J. G., Ramar K., Olson E. J. Updates on definition, consequences, and management of obstructive sleep apnea. *Mayo Clinic Proceedings*, 2011, vol. 86, no. 6, pp. 549–555. <https://doi.org/10.4065/mcp.2010.0810>
7. Enciso R., Nguyen M., Shigeta Y., Ogawa T., Clark G. T. Comparison of cone-beam CT parameters and sleep questionnaires in sleep apnea patients and control subjects. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontics*, 2010, vol. 109, no. 2, pp. 285–293. <https://doi.org/10.1016/j.tripleo.2009.09.033>
8. Alsufyani N. A., Al-Saleh M. A., Major P. W. CBCT assessment of upper airway changes and treatment outcomes of obstructive sleep apnoea: a systematic review. *Sleep Breath*, 2013, vol. 17, pp. 911–923.
9. Rubnikovich S. P., Denisova Y. L., Vladimirskaia T. E., Andreyeva V. A., Kvacheva Z. B., Panasenkov G. Y., Volotovskiy I. D. Regenerative cell technologies for gingival recession treatment. *Modern technologies in medicine*, 2018, vol. 10, no. 4, pp. 94–104. <https://doi.org/10.17691/stm2018.10.4.11>
10. Rubnikovich S. P., Khomich I. S., Denisova Yu. L. Morphological changes in bone tissue around dental implants after low-intensity ultrasound applications. *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. 20–27 (in Russian).
11. Rubnikovich S. P., Maizet A. I., Denisova Yu. L., 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. <https://doi.org/10.14300/mnnc.2017.12095>
12. Fomin N. A., Rubnikovich S. P., Bazylev N. B. New possibilities of investigating blood flow in soft tissues of the mouth. *Journal of Engineering Physics and Thermophysics*, 2008, vol. 81, no. 3, pp. 533–543. <https://doi.org/10.1007/s10891-008-0065-9>
13. Sirak S. V., Rubnikovich S. P., Shchetinin E. V., Perikova M. G., Petrosyan G. G., Bykova N. I., Kobylkina T. L., Didenko M. O. Immunohistochemical evaluation of changes in periodontal tissues in experimental animals with bone skeleton osteoporosis. *Meditsinskii vestnik Severnogo Kavkaza = Medical news of North Caucasus*, 2019, vol. 14, no. 4, pp. 681–685 (in Russian). <https://doi.org/10.14300/mnnc.2019.14168>
14. Shchetinin E. V., Sirak S. V., Rubnikovich S. P., Kochkarova Z. M., Andreev A. A., Muratova A. Yu., Perikova M. G., Petrosyan G. G. Morphometric parameters of reparative regeneration of the bone tissue in terms of medicinal phonophoresis with hydrocortisone and hyaluronic acid. *Meditsinskii vestnik Severnogo Kavkaza = Medical news of North Caucasus*, 2019, vol. 14, no. 4, pp. 660–663 (in Russian). <https://doi.org/10.14300/mnnc.2019.14163>
15. Garunov M. M., Sevbitov A. V., Dolgalev A. A., Sirak S. V., Solovyeva O. A., Remizova A. A., Dzgova M. G., Rubnikovich S. P. Clinical and radiographic assessment of osteointegration of dental implants after remodeling of the perimplant zone. *Meditsinskii vestnik Severnogo Kavkaza = Medical news of North Caucasus*, 2019, vol. 14, no. 4, pp. 699–701 (in Russian). <https://doi.org/10.14300/mnnc.2019.14174>
16. Rubnikovich, S. P., Denisova, Y. L., Fomin, N. A. Digital laser speckle technologies in measuring blood flow in biotissues and the stressed-strained state of the maxillofacial system. *Journal of Engineering Physics and Thermophysics*, 2017, vol. 90, no. 6, pp. 1513–1523. <https://doi.org/10.1007/s10891-017-1713-8>
17. Denisova Y. L., Bazylev N. B., Rubnikovich S. P., Fomin N. A. Laser speckle technology in stomatology. diagnostics of stresses and strains of hard biotissues and orthodontic and orthopedic structures. *Journal of Engineering Physics and Thermophysics*, 2013, vol. 86, no. 4, pp. 940–951. <https://doi.org/10.1007/s10891-013-0915-y>
18. Bazylev N. B., Rubnikovich S. P. Investigation of the stressed-strained state of cermet dentures using digital laser speckle-photographic analysis. *Journal of Engineering Physics and Thermophysics*, 2009, vol. 82, no. 4, pp. 789–793. <https://doi.org/10.1007/s10891-009-0247-0>
19. Fomin N., Fuentes C., Hirano T., Rubnikovich S., Bazylev N., Lavinskaya E. [et al.]. Laser monitor for soft and hard biotissue analysis using dynamic speckle photography. *Journal of Laser Physics*, 2003, vol. 13, no. 5, pp. 786–795.
20. Ogawa T., Enciso R., Shintaku W. H., Clark G. T. Evaluation of cross-section airway configuration of obstructive sleep apnea. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontics*, 2007, vol. 103, no. 1, pp. 102–108. <https://doi.org/10.1016/j.tripleo.2006.06.008>

Information about the authors

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

Irina S. Abelskaya – D. Sc. (Med.), Professor. Belarusian Medical Academy of Postgraduate Education (3/3, P. Brovka Str., 220013, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: abelskaya.irina@gmail.com

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

Абельская Ирина Степановна – д-р мед. наук, профессор. Белорусская медицинская академия последипломного образования (ул. П. Бровки, 3/3, 220013, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: abelskaya.irina@gmail.com

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

Sergey V. Sirak – D. Sc. (Med.), Professor, Head of the Department. Stavropol State Medical University (310, Mir Str., 355017, Stavropol, Russian Federation). E-mail: sergejsirak@yandex.ru

Vladimir G. Shishov – Researcher. Belarusian Medical Academy of Postgraduate Education (3/3, P. Brovka Str., 220013, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: vladimir_shishov@inbox.ru

Денисова Юлия Леонидовна – д-р мед. наук, профессор. Белорусский государственный медицинский университет (пр. Дзержинского, 83, 220116, г. Минск, Республика Беларусь).

Сирак Сергей Владимирович – д-р мед. наук, профессор, заведующий кафедрой. Ставропольский государственный медицинский университет). E-mail: sergejsirak@yandex.ru mailto:rubnikovich@mail.ru

Шишов Владимир Григорьевич – науч. сотрудник. Белорусская медицинская академия последипломного образования (ул. П. Бровки, 3/3, 220013, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: vladimir_shishov@inbox.ru

ISSN 1814-6023 (Print)

ISSN 2524-2350 (Online)

УДК 616.127-005.4-092.9:546.17

<https://doi.org/10.29235/1814-6023-2020-17-3-353-363>

Поступила в редакцию 06.04.2020

Received 06.04.2020

С. Н. Чепелев, Ф. И. Висмонт

Белорусский государственный медицинский университет, Минск, Республика Беларусь

О ЗНАЧИМОСТИ МОНООКСИДА АЗОТА В РЕАЛИЗАЦИИ ИНФАРКТ-ЛИМИТИРУЮЩЕГО ЭФФЕКТА ДИСТАНТНОГО ИШЕМИЧЕСКОГО ПОСТКОНДИЦИОНИРОВАНИЯ ПРИ ИШЕМИИ-РЕПЕРФУЗИИ МИОКАРДА У МОЛОДЫХ И СТАРЫХ КРЫС

Аннотация. Современная медицина стоит перед проблемой неуклонного роста сердечно-сосудистой патологии. Учитывая высокую медицинскую и социальную значимость проблемы лечения пациентов с ишемической болезнью сердца и острым инфарктом миокарда, поиск новых эффективных методов предотвращения или ослабления ишемического повреждения миокарда и механизмов их реализации является актуальной задачей современной экспериментальной и клинической медицины.

Целью исследования было выяснить значимость монооксида азота в реализации инфаркт-лимитирующего эффекта дистантного ишемического посткондиционирования (ДИПостК) при ишемии-реперфузии миокарда у молодых и старых крыс. В ходе исследования установлено, что ДИПостК оказывает инфаркт-лимитирующий эффект при ишемии-реперфузии миокарда как у молодых, так и у старых крыс, однако в условиях системного действия ингибитора NO-синтазы метилового эфира N^G-нитро-L-аргинина в дозе 25 мг/кг (внутривенное введение за 5 мин до начала реперфузии и за 15 мин до ДИПостК) эффект сохраняется, хотя и не полностью, у старых, но не у молодых крыс. По-видимому, активность NO-синтазы и уровень монооксида азота в крови играют более значимую роль в механизмах реализации кардиопротекторных эффектов ДИПостК у молодых крыс, чем у старых.

Ключевые слова: дистантное ишемическое посткондиционирование, инфаркт-лимитирующий эффект, зона риска, зона некроза, монооксид азота, крысы, ишемия-реперфузия, миокард

Для цитирования: Чепелев, С. Н. О значимости монооксида азота в реализации инфаркт-лимитирующего эффекта дистантного ишемического посткондиционирования при ишемии-реперфузии миокарда у молодых и старых крыс / С. Н. Чепелев, Ф. И. Висмонт // Вест. Нац. акад. наук Беларусі. Сер. мед. навук. – 2020. – Т. 17, № 3. – С. 353–363. <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2020-17-3-353-363>

Sergey N. Chepelev, F. Frantishk I. Vismont

Belarusian State Medical University, Minsk, Republic of Belarus

SIGNIFICANCE OF NITROGEN MONOXIDE IN THE IMPLEMENTATION OF THE INFARCT-LIMITING EFFECT OF REMOTE ISCHEMIC POSTCONDITIONING IN MYOCARDIAL ISCHEMIA-REPERFUSION IN YOUNG AND OLD RATS

Abstract. Modern medicine faces the problem of a steady growth of cardiovascular pathology. Given the high medical and social significance of the problem of treating patients with coronary heart disease and acute myocardial infarction, the search for new effective methods to prevent or mitigate ischemic myocardial damage and mechanisms for their implementation is an urgent task of modern experimental and clinical medicine.

The aim of the study was to determine the significance of nitric monoxide in realizing the infarction-limiting effect of remote ischemic postconditioning (RIPostC) in myocardial ischemia-reperfusion in young and old rats. The study revealed that RIPostC has a heart attack-limiting effect in myocardial ischemia-reperfusion in both young and old rats; however, under the conditions of the systemic action of the N^G-nitro-L-arginine methyl ester inhibitor at a dose of 25 mg/kg (intravenous administration 5 min before the start of reperfusion and 15 min before RIPostC), the effect remains, although not completely, in old rats but not in young rats. Apparently, the NO synthase activity and the blood level of nitric monoxide play a more significant role in the mechanisms of the cardioprotective effects of RIPostC in young rats than in old rats.

Keywords: remote ischemic postconditioning, infarct-limiting effect, risk area, necrosis area, nitrogen monoxide, rats, ischemia-reperfusion, myocardium

For citation: Chepelev S. N., Vismont F. I. Significance of nitrogen monoxide in the implementation of the infarct-limiting effect of remote ischemic postconditioning in myocardial ischemia-reperfusion in young and old rats. *Vestsi Natsyyanal' nai akademii navuk Belarusi. Seriya meditsinskikh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2020, vol. 17, no. 3, pp. 353–363 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2020-17-3-353-363>

Введение. В настоящее время ишемическая болезнь сердца (ИБС) является основной причиной смертности в развитых странах мира и в Республике Беларусь в частности [1]. Учитывая большую частоту инвалидизации и сложность реабилитации пациентов с инфарктом миокарда, ИБС представляет собой не только значимую медицинскую, но и важную государственную проблему. В связи с этим поиск новых эффективных методов предотвращения или ослабления ишемического повреждения миокарда остается актуальной задачей современной экспериментальной и клинической медицины [2–5].

В последние годы объектом повышенного интереса ведущих мировых исследователей в области экспериментальной и клинической кардиологии являются кардиопротекторные (противоишемический и антиаритмический) эффекты дистантного ишемического пре- (ДИПК) и посткондиционирования (ДИПостК), которые воспроизводятся ишемией конечностей, осуществляемой до и после острой ишемии миокарда (ОИМ) соответственно [4, 6–8].

В 2003 г. Z.-Q. Zhao с соавт. [9] сообщили, что ишемическое посткондиционирование, состоящее из коротких прерывистых циклов ишемии, чередующихся с реперфузией, после ишемического события смягчает последствия реперфузионного повреждения и миокард становится устойчивым к действию реперфузии. За последние годы данные ряда фундаментальных научных и клинических исследований подтвердили, что ишемическое посткондиционирование является эффективным методом снижения реперфузионного повреждения [10–14].

Для эффективного применения любого варианта преко́ндиционирования (локального или дистантного) как меры профилактической кардиопротекции необходимо точно знать, когда наступит ишемия, требующая защиты миокарда. Но поскольку это практически невозможно, то мощный кардиопротекторный потенциал преко́ндиционирования, как правило, клинически не используется. Следовательно, ишемическое посткондиционирование, особенно ДИПостК, имеющее несомненное преимущество перед различными вариантами преко́ндиционирования, можно успешно применять в клинической практике наряду с другими рекомендациями. Во-первых, это чрезвычайно безопасно и дешево, а также малоинвазивно; во-вторых, его можно применять при оказании скорой медицинской помощи и ко всем пациентам с ишемией миокарда, получающим реперфузионное лечение.

К настоящему времени накоплен определенный объем знаний о феномене ДИПостК и механизмах его защитного влияния на миокард. Показано, что ДИПостК значительно снижает проявления реперфузионного повреждения миокарда [4, 6, 14, 15]. В то же время имеющиеся сведения о противоишемической и антиаритмической эффективности ишемического посткондиционирования в условиях наличия такого сопутствующего фактора риска сердечно-сосудистого заболевания, как возраст, немногочисленны и весьма противоречивы [15–20]. Так, результаты ряда экспериментальных исследований указывают на то, что возраст животных является фактором, препятствующим воспроизведению противоишемического и антиаритмического эффектов ишемического посткондиционирования [18–20]. В то же время имеются сообщения о противоишемической эффективности посткондиционирования у старых животных [15–17, 21]. Причины такого расхождения результатов исследований до сих пор не выяснены.

Известно, что процессы старения организма сопровождаются значительными морфофункциональными и биохимическими изменениями [22–24]. Можно предположить, что возрастные изменения органов и тканей могут оказывать существенное влияние на кардиопротекторную эффективность посткондиционирования у старых крыс.

Как известно, большинство заболеваний сердца связаны с ишемией миокарда. А одной из причин ишемии является дефицит монооксида азота (NO). В миокарде NO может регулировать функции органа как непосредственно, так и через влияние на сосуды. По современным представлениям, дефицит NO является ключевым звеном эндотелиальной дисфункции и развития сердечной недостаточности [25]. Роль экзогенного NO в кардиопротекции при ишемии была продемонстрирована А. Накао с соавт. [26]. Результаты целого ряда исследований подтвердили роль NO в кардиопротекторном эффекте ишемического преко́ндиционирования [27–29]. Показано, что доноры NO оказывают кардиопротекторный эффект, уменьшая опосредованное реактивными формами кислорода повреждение тканей [26, 30]. Однако биохимические механизмы

кардиопротекции, лежащие в основе инфаркт-лимитирующего эффекта кондиционирования при ишемии-реперфузии миокарда, несмотря на их интенсивное изучение, исследованы недостаточно и во многом не ясны [3, 4, 26, 28, 30].

Учитывая, что старение повышает чувствительность сердца к ишемическо-реперфузионному повреждению, а также данные о том, что в организме старых животных происходят значительные морфофункциональные и биохимические изменения, можно предположить, что возрастные изменения органов и тканей (в частности, изменения в активности L-аргинин-NO системы, ответственной за образование NO [25]) могут оказывать существенное влияние на кардиопротекторную эффективность ДИПостК у старых крыс.

Учитывая имеющиеся данные о возрастных изменениях, а также о том, что уровень NO оказывает влияние на процессы эндотелиальной дисфункции и механизмы реперфузионного повреждения миокарда, были основания полагать, что активность NO-синтазы в органах и тканях, уровень NO и возраст животных играют значимую роль в кардиопротекторных эффектах ДИПостК.

Цель исследования – выяснить значимость NO в реализации инфаркт-лимитирующего эффекта дистантного ишемического посткондиционирования при ишемии-реперфузии миокарда у молодых и старых крыс.

Материалы и методы исследования. Исследование кардиопротекторной эффективности ДИПостК выполнено на 106 наркотизированных нелинейных белых крысах-самцах, разделенных на две возрастные группы: 4 ± 1 мес. (44 молодые (молод) крысы массой 200–220 г) и 24 ± 1 мес. (62 старые (стар) крысы массой 400–430 г). Все животные были разделены на 6 групп: Контроль_{молод} ($n = 10$), Контроль_{стар} ($n = 11$), ДИПостК_{молод} ($n = 16$), ДИПостК_{стар} ($n = 25$), L-NAME + ДИПостК_{молод} ($n = 18$), L-NAME + ДИПостК_{стар} ($n = 26$). Эксперименты выполняли в соответствии с этическими нормами обращения с лабораторными животными, а также руководствуясь требованиями Директивы Европейского этического комитета 86/609/ЕЕС от 24.11.1986, Европейской конвенции от 18.03.1986 г. «О защите позвоночных животных, используемых в экспериментальных и других научных целях» и ТКП 125-2008 «Надлежащая лабораторная практика», утвержденным постановлением Министерства здравоохранения Республики Беларусь № 56 от 28.03.2008 [31, 32].

Животные содержались в условиях вивария УО «Белорусский государственный медицинский университет» в соответствии с нормативами индивидуального размещения [33]. Световой режим соответствовал естественному уровню освещенности в течение суток. Температура воздуха в виварии поддерживалась на уровне 20–25 °С, что находится в пределах термонейтральной зоны для крыс. Относительная влажность воздуха составляла 50–70 %. Температуру и относительную влажность воздуха регистрировали ежедневно с помощью гигрометра психрометрического ВИТ-1. При выполнении работы особое внимание уделяли шумовому режиму содержания животных, так как высокий уровень шума способствует развитию стресса у крыс. Рацион животных состоял из комбикорма КК-92 / ПХЧ-5, количество которого определялось нормами кормления лабораторных животных [34]. Питьевой режим соответствовал принципу *ad libitum*. Все манипуляции с животными проводили в течение дня с 8:00 до 18:00. Формирование экспериментальных групп животных осуществляли методом случайной выборки.

Острую коронарную недостаточность у крыс воспроизводили по методике, описанной С. Clark с соавт. [35]. Для наркотизации животных использовали тиопентал натрия в дозе 50 мг/кг внутривенно с последующей внутривенной инфузией поддерживающей дозы 10 мг/кг·ч. Крыс переводили на искусственное дыхание атмосферным воздухом (частота дыхания 56–60 вдохов в минуту) при помощи аппарата искусственной вентиляции легких. Наличие проходимости дыхательных путей контролировали по давлению в трахее, нормальным значением которого на вдохе считалось 10–15 мм рт. ст. Температуру тела измеряли в прямой кишке с помощью электротермометра Harvard (Великобритания) и поддерживали электрогрелкой на уровне $37,0 \pm 0,5$ °С. Грудную клетку наркотизированного животного вскрывали в четвертом межреберном промежутке слева. После периода 15-минутной стабилизации гемодинамики крысам выполняли 30-минутную окклюзию левой коронарной артерии (ЛКА) путем механического ее пережатия при помощи лигатуры. Согласно современным представлениям, длительность коронарной

окклюзии у крыс, равная 30–40 мин, является достаточной для формирования зоны некроза миокарда, составляющей около 50 % от зоны риска [2, 5, 6]. Окклюзия артерии подтверждалась цианозом ишемизированной области, снижением артериального давления (АД) на 10–20 мм рт. ст. и подъемом сегмента ST на электрокардиограмме (ЭКГ). Реперфузия миокарда достигалась снятием лигатуры, подтверждалась исчезновением цианоза и возвращением сегмента ST к изолинии. Длительность реперфузии составляла 120 мин, поскольку, согласно имеющимся литературным данным, указанный интервал времени является достаточным для формирования в миокарде крыс зоны некроза [2, 4, 6].

ДИПостК выполняли в соответствии с протоколом исследования, представленным М. Basalay с соавт. [6], согласно которому животных опытных групп ДИПостК дополнительно подвергали воздействию 15-минутной окклюзии обеих бедренных артерий через 10 мин после 30-минутной ОИМ.

В ходе экспериментов непрерывно регистрировали ЭКГ во II стандартном отведении и системное АД. Полученные данные обрабатывали с помощью компьютерной программы Spike 4. Для определения АД крысам канюлировали правую общую сонную артерию. Изучали также следующие показатели гемодинамики: среднее АД ($\overline{АД}_{ср}$), частоту сердечных сокращений (ЧСС), двойное произведение (ДП). $\overline{АД}_{ср}$ рассчитывали как АД диастолическое + 1/3 (АД систолическое – АД диастолическое), ДП – как (ЧСС·АД систолическое)/100. Показатели гемодинамики регистрировали непрерывно в течение эксперимента и оценивали в конце 15-минутной стабилизации гемодинамики после вскрытия грудной клетки, в начале 30-минутной окклюзии ЛКА, в начале реперфузии, а также каждые 30 мин в течение реперфузии.

Зону риска выявляли путем введения в левую общую яремную вену 0,5 мл 5 %-ного раствора синьки Эванса (Sigma-Aldrich, США) в конце реперфузии при повторном кратковременном пережатии лигатурой ЛКА. Для идентификации зоны риска в миокарде левого желудочка крыс использовали метод, основанный на определении активности дегидрогеназ [36]. Зону риска определяли как зону, не окрашенную в синий цвет. Затем сердце извлекали и отделяли левый желудочек. После замораживания в морозильной камере (при $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ в течение 30 мин) левый желудочек разрезали на 6 поперечных срезов. Срезы взвешивали на торсионных весах, а затем сканировали при помощи сканера Epson с обеих сторон.

При помощи компьютерной планиметрии с использованием программы Adobe Photoshop CC 2017 для каждого среза определяли отношение средней площади зоны риска в каждом срезе ($\overline{s}_{\text{риска}}$) к средней площади всего среза ($\overline{s}_{\text{среза}}$). Массу зоны риска в каждом срезе ($m_{\text{риска}}$) для каждого отдельного среза вычисляли по формуле

$$m_{\text{риска}} = \frac{\overline{s}_{\text{риска}} \cdot m_{\text{среза}}}{\overline{s}_{\text{среза}}},$$

где $m_{\text{среза}}$ – масса всего среза.

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

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

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

После этого для идентификации зоны некроза срезы помещали в 1 %-ный раствор 2,3,5-трифенилтетразолия хлорида на 15 мин при температуре $37\text{ }^{\circ}\text{C}$. Жизнеспособный миокард (клетки, сохранившие дегидрогеназную активность) окрашивался в кирпично-красный цвет, а некротизированная ткань была белесой. После 24-часовой инкубации срезов в 10 %-ном растворе формалина срезы сканировали повторно для определения соотношения площадей зоны риска и зоны некроза. При помощи компьютерной планиметрии для каждого среза миокарда левого желудочка определяли отношение средней площади зоны некроза в каждом срезе ($\overline{s}_{\text{некроза}}$) к средней пло-

щади всего среза ($\bar{s}_{\text{среза}}$). Массу зоны некроза в каждом срезе ($m_{\text{некроза}}$) для каждого отдельного среза вычисляли по формуле

$$m_{\text{некроза}} = \frac{\bar{s}_{\text{некроза}} \cdot m_{\text{среза}}}{\bar{s}_{\text{среза}}}$$

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

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

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

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

Критериями исключения животных из опытов являлись ЧСС < 300 уд/мин до начала эксперимента и АД_{ср} < 60 мм рт. ст.

Изучение кардиопротекторной эффективности ДИПостК при ишемии и реперфузии миокарда у старых и молодых крыс в условиях депрессии NO-синтазы проводилось у животных, которым за 5 мин до начала реперфузии и за 15 мин до воспроизведения ДИПостК внутривенно вводили в левую общую яремную вену водный раствор метилового эфира N^G-нитро-L-аргинина (L-NAME, Acros Organics, США) в дозе 25 мг/кг.

Полученные в ходе исследования результаты анализировали с использованием стандартных пакетов статистических программ Statistica 13.3 и GraphPad Prism. Для оценки нормальности распределения анализируемых показателей применяли критерий Колмогорова–Смирнова. Статистическую значимость различий полученных данных в случае их параметрического распределения оценивали с помощью однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA) с использованием тестов множественных сравнений Данна и Бонферрони. Результаты исследования при их параметрическом распределении представляли в виде среднего ± стандартная ошибка среднего (M ± m). При непараметрическом распределении результаты исследования были представлены в виде медианы и интерквартильного размаха (25-й; 75-й процентиля). Для оценки статистической значимости различий качественных параметров применяли точный метод Фишера. Уровень $p < 0,05$ рассматривали как статистически значимый.

Результаты и их обсуждение. Показатель выживаемости после ОИМ у старых крыс составил 51,6 % (30 старых крыс из 62 погибли во время острой коронарной окклюзии и периода реперфузии). При этом в группе Контроль_{стар} выживаемость животных составила 72,7 %, в группе ДИПостК_{стар} – 48,0, а в группе L-NAME + ДИПостК_{стар} – 46,2 %. У молодых крыс показатель выживаемости после ОИМ составил 72,7 % (12 молодых крыс из 44 погибли в период острой коронарной окклюзии и реперфузии). Выживаемость в исследуемых группах молодых крыс была следующей: в группе Контроль_{молод} – 80,0 %, в группе ДИПостК_{молод} – 75,0, а в группе L-NAME + ДИПостК_{молод} – 66,7 %. Более низкая выживаемость у старых крыс является следствием снижения устойчивости миокарда к повреждению, вызванному продолжительной ишемией и реперфузией. Таким образом, количество животных в экспериментальных группах с учетом их выживаемости стало следующим: Контроль_{молод} – 8 крыс, Контроль_{стар} – 8, ДИПостК_{молод} – 12, ДИПостК_{стар} – 12, L-NAME + ДИПостК_{молод} – 12, L-NAME + ДИПостК_{стар} – 12 крыс.

В группах Контроль_{стар}, ДИПостК_{стар}, а также Контроль_{молод}, ДИПостК_{молод} статистически значимых отличий АД_{ср} и ЧСС на протяжении эксперимента по сравнению с их исходными значениями не выявлено. В группах молодых и старых крыс, которым за 5 мин до начала реперфузии и за 15 мин до воспроизведения ДИПостК осуществляли внутривенное введение ингибитора

NO-синтазы L-NAME в дозе 25 мг/кг (L-NAME + ДИПостК_{молод} и L-NAME + ДИПостК_{стар}), показатели АД_{ср} и ЧСС на протяжении эксперимента статистически значимо не отличались от своих исходных значений, хотя и отмечалась тенденция к повышению АД_{ср} у животных, получивших L-NAME (см. таблицу).

Изменение показателей гемодинамики у старых и молодых крыс на протяжении эксперимента

Changes in the hemodynamic parameters in old and young rats during the experiment

Экспериментальная группа		Старые крысы			Молодые крысы		
		Контроль (n = 8)	ДИПостК (n = 12)	L-NAME + ДИПостК (n = 12)	Контроль (n = 8)	ДИПостК (n = 12)	L-NAME + ДИПостК (n = 12)
До начала ОИМ	АД _{ср}	89 ± 6	87 ± 7	86 ± 8	88 ± 5	85 ± 3	86 ± 6
	ЧСС	442 ± 15	436 ± 24	440 ± 22	412 ± 7	410 ± 16	422 ± 14
Начало ОИМ	АД _{ср}	72 ± 4	71 ± 5	73 ± 6	76 ± 5	74 ± 4	75 ± 7
	ЧСС	415 ± 31	425 ± 15	405 ± 8	419 ± 6	427 ± 12	413 ± 15
Начало реперфузии	АД _{ср}	72 ± 6	74 ± 5	76 ± 10	73 ± 3	72 ± 4	76 ± 6
	ЧСС	410 ± 46	415 ± 15	386 ± 14	413 ± 17	412 ± 21	408 ± 18
30' реперфузии	АД _{ср}	75 ± 3	73 ± 3	80 ± 6	75 ± 6	77 ± 4	80 ± 6
	ЧСС	401 ± 40	423 ± 17	366 ± 12	416 ± 14	401 ± 12	382 ± 19
60' реперфузии	АД _{ср}	77 ± 4	76 ± 6	82 ± 9	76 ± 3	78 ± 4	81 ± 5
	ЧСС	404 ± 34	434 ± 24	382 ± 14	423 ± 16	415 ± 21	388 ± 17
90' реперфузии	АД _{ср}	78 ± 6	80 ± 5	83 ± 8	78 ± 2	79 ± 5	84 ± 6
	ЧСС	410 ± 31	432 ± 19	398 ± 15	431 ± 15	399 ± 21	405 ± 21
120' реперфузии	АД _{ср}	80 ± 5	81 ± 4	84 ± 6	83 ± 6	84 ± 4	85 ± 5
	ЧСС	421 ± 22	437 ± 22	412 ± 17	417 ± 18	431 ± 26	432 ± 16

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

При изучении антиаритмической эффективности ДИПостК при ишемии-реперфузии миокарда у старых крыс в условиях системного действия в организме животных L-NAME (25 мг/кг) установлено, что длительность ишемических нарушений сердечного ритма в группе Контроль_{стар} составила 81 (51; 173) с, в группе ДИПостК_{стар} – 78 (41; 235), в группе L-NAME + ДИПостК_{стар} – 56 (29; 162) с. Во время 30-минутной ишемии и 120-минутной реперфузии миокарда у молодых крыс имели место нарушения сердечного ритма, продолжительность которых составила: в группе Контроль_{молод} – 184 (20; 231) с, в группе ДИПостК_{молод} – 149 (105; 164), в группе L-NAME + ДИПостК_{молод} – 121 (67; 151) с (рис. 1).

В ходе исследования также установлено, что в группе Контроль_{стар} у старых крыс во время ОИМ у 5 из 8 крыс отмечалась ФЖ, а у 7 животных – ПЖТ. Реперфузионные нарушения сердечного ритма имели место у 7 крыс группы Контроль_{стар}. В группе ДИПостК_{стар} в период острой коронарной окклюзии у 9 из 12 крыс отмечалась ФЖ ($p > 0,05$), а ПЖТ имела место у 10 крыс ($p > 0,05$). Во время реперфузии миокарда нарушения сердечного ритма наблюдались у 11 животных группы ДИПостК_{стар} ($p > 0,05$). В группе L-NAME + ДИПостК_{стар} в период 30-минутной ишемии миокарда ФЖ и ПЖТ были выявлены у 10 из 12 животных ($p > 0,05$). Реперфузионные аритмии имели место у всех животных группы L-NAME + ДИПостК_{стар} ($p > 0,05$).

Таким образом, у старых крыс длительность ишемических нарушений сердечного ритма в группах ДИПостК_{стар} и L-NAME + ДИПостК_{стар} сопоставима с таковой в группе Контроль_{стар}, что вполне объяснимо, учитывая, что ДИПостК и введение животным за 5 мин до начала репер-

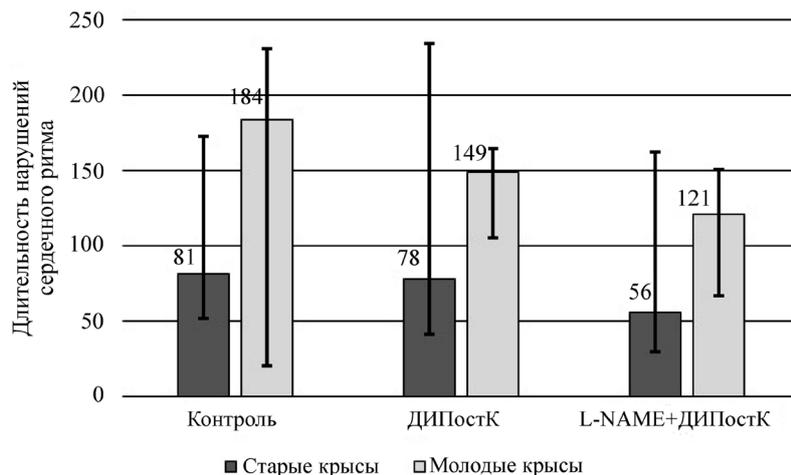


Рис. 1. Длительность нарушений сердечного ритма во время 30-минутной ишемии и 120-минутной реперфузии миокарда у старых и молодых крыс

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

фузии L-NAME (25 мг/кг) не могли оказывать влияние на выраженность нарушений сердечного ритма во время 30-минутной ишемии миокарда.

У молодых крыс длительность нарушений сердечного ритма во время ОИМ в группах ДИПостК_{молад} и L-NAME + ДИПостК_{молад} также статистически значимо не отличалась от таковой в группе Контроль_{молад}.

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

При изучении противоишемической эффективности ДИПостК при ишемии и реперфузии миокарда у старых крыс в условиях системного действия в организме животных ингибитора NO-синтазы L-NAME установлено, что размер зоны некроза в миокарде левого желудочка в группе Контроль_{стар} составил 49 ± 3 %, в группе ДИПостК_{стар} – 28 ± 3 % ($p < 0,05$), в группе L-NAME + ДИПостК_{стар} – 36 ± 2 % ($p < 0,05$) (рис. 2).

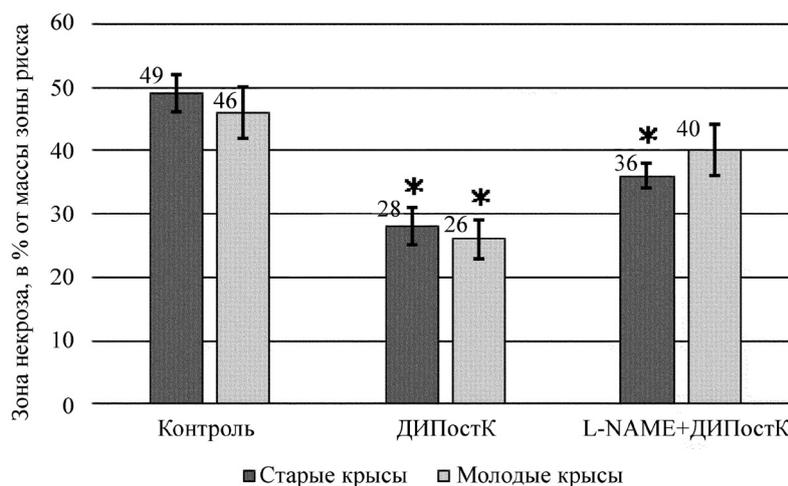


Рис. 2. Размеры зоны некроза в миокарде левого желудочка у старых и молодых крыс.

Статистически значимые отличия размеров зоны некроза в группах ДИПостК и L-NAME + ДИПостК по сравнению с соответствующими группами Контроль: * – $p < 0,05$ у молодых и старых крыс

Fig. 2. Necrosis zone sizes in the left ventricular myocardium in old and young rats. Statistically significant differences in the necrosis area size in the RIPostC and L-NAME + RIPostC groups compared with the corresponding control groups: * – $p < 0.05$ in young and old rats

Результаты исследования свидетельствуют о том, что у старых крыс после воспроизведения как ДИПостК, так и ДИПостК в условиях внутривенного введения животным L-NAME, которое осуществлялось за 5 мин до начала реперфузии и за 15 мин до выполнения ДИПостК, при ишемии и реперфузии миокарда в левом желудочке формировались менее обширные зоны некроза по сравнению с группой Контроль_{стар}. Таким образом, у старых крыс имел место выраженный противоишемический эффект ДИПостК. В условиях системного действия в организме животных ингибитора NO-синтазы L-NAME у старых крыс ДИПостК также оказывал противоишемический эффект, но менее выраженный.

У молодых крыс выявлены следующие размеры зоны некроза в миокарде левого желудочка: в группе Контроль_{молод} – $46 \pm 4\%$, в группе ДИПостК_{молод} – 26 ± 3 ($p < 0,05$ по сравнению с группой Контроль_{молод}), в группе L-NAME + ДИПостК_{молод} – $40 \pm 4\%$ (рис. 2).

В ходе исследования установлено, что у молодых крыс после воспроизведения ДИПостК имело место статистически значимое снижение размеров зоны некроза в миокарде левого желудочка по сравнению с группой Контроль. Однако после внутривенного введения животным L-NAME, которое осуществлялось за 5 мин до начала реперфузии и за 15 мин до воспроизведения ДИПостК, у молодых крыс при ишемии и реперфузии миокарда в левом желудочке формировались сопоставимые по размерам с группой Контроль зоны некроза.

Таким образом, результаты исследования свидетельствуют о наличии выраженного противоишемического эффекта ДИПостК у молодых крыс. Однако в условиях системного действия в организме животных ингибитора NO-синтазы L-NAME (25 мг/кг) у молодых крыс ДИПостК не оказывало противоишемического эффекта.

Полученные данные дают основания полагать, что активность NO-синтазы и уровень NO имеют большую значимость в механизмах реализации противоишемического эффекта ДИПостК у молодых, но не у старых крыс.

Заключение. ДИПостК оказывает инфаркт-лимитирующий эффект при ишемии-реперфузии миокарда как у молодых, так и у старых крыс, однако в условиях системного действия L-NAME этот эффект ДИПостК сохраняется только у старых крыс, хотя он менее выражен. Установлено, что ДИПостК у старых крыс в условиях системного действия в организме животных L-NAME в дозе 25 мг/кг приводит к уменьшению размеров зоны некроза в миокарде левого желудочка на 26,5 % ($p < 0,05$) по сравнению с таковой у старых крыс контрольной группы. По-видимому, активность NO-синтазы и уровень NO играют более значимую роль в механизмах реализации кардиопротекторных эффектов ДИПостК у молодых, чем у старых крыс, что указывает на необходимость дифференцированного подхода к применению ДИПостК при ишемии-реперфузии миокарда в молодом и пожилом возрасте.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список использованных источников

1. Сердечно-сосудистые заболевания в Республике Беларусь: анализ ситуации и стратегии контроля / А. Г. Мрочек [и др.]. – Минск : Беларус. навука, 2011. – 340 с.
2. Шляхто, Е. В. Ограничение ишемического и реперфузионного повреждения миокарда с помощью пре- и посткондиционирования: молекулярные механизмы и мишени для фармакотерапии / Е. В. Шляхто, Е. М. Нифонтов, М. М. Галагудза // Креатив. кардиология. – 2007. – № 1–2. – С. 75–101.
3. Кардиопротективные эффекты ишемического кондиционирования: современные представления о механизмах, экспериментальные подтверждения, клиническая реализация / А. Е. Баутин [и др.] // Трансляц. медицина. – 2016. – Т. 3, № 1. – С. 50–62.
4. Кардиопротективный эффект дистантного посткондиционирования: механизмы и возможность клинического применения / Л. Н. Маслов [и др.] // Клин. медицина. – 2016. – Т. 94, № 9. – С. 650–656.
5. Balakumar, P. Pre-conditioning and postconditioning to limit ischemia-reperfusion-induced myocardial injury: what could be the next footprint? / P. Balakumar, A. Rohilla, M. Singh // Pharm. Res. – 2008. – Vol. 57, N 6. – P. 403–412. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2008.05.006>
6. Remote ischaemic pre- and delayed postconditioning – similar degree of cardioprotection but distinct mechanisms / M. Basalay [et al.] // Exp. Physiol. – 2012. – Vol. 97, N 8. – P. 908–917. <https://doi.org/10.1113/expphysiol.2012.064923>
7. Кардиопротекторная эффективность дистантного ишемического преко́ндиционирования при ишемии-реперфузии миокарда у крыс с экспериментальной дислипидемией / Ф. И. Висмонт [и др.] // Вес. Нац. акад. наук Беларусі. Сер. мед. навук. – 2018. – Т. 15, № 2. – С. 215–221.

8. Schmidt, M. R. Remote ischemic preconditioning: no loss in clinical translation / M. R. Schmidt, S. B. Kristiansen, H. E. Bøtker // *Circ. Res.* – 2013. – Vol. 113, N 12. – P. 1278–1280. <https://doi.org/10.1161/circresaha.113.302942>
9. Inhibition of myocardial injury by ischemic postconditioning during reperfusion: comparison with ischemic preconditioning / Z.-Q. Zhao [et al.] // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* – 2003. – Vol. 285, N 2. – P. H579–H588. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.01064.2002>
10. Ischaemic postconditioning protects the heart against ischemia-reperfusion injury, via neuronal nitric oxide synthase in the sarcoplasmic reticulum and mitochondria / L. Hu [et al.] // *Cell Death Dis.* – 2016. – Vol. 7, N 5. – P. e2222. <https://doi.org/10.1038/cddis.2016.108>
11. Адаптивний феномен ішемічного посткондиціонування серця. Перспективи клінічного застосування / Л. Н. Маслов [и др.] // *Вестн. Рос. акад. мед. наук.* – 2013. – Т. 68, № 1. – С. 10–20.
12. Посткондиціонування серця: аналіз експериментальних і клінічних даних / Л. Н. Маслов [и др.] // *Вестн. Рос. акад. мед. наук.* – 2016. – Т. 71, № 1. – С. 25–30.
13. Кардіопротективні ефекти феномена ішемічного посткондиціонування міокарда / Е. В. Шляхто [и др.] // *Кардіологія.* – 2005. – Т. 45, № 7. – С. 44–48.
14. Vinten-Johansen, J. The science and clinical translation of remote postconditioning // *J. Vinten-Johansen, W. Shi // J. Cardiovasc. Med.* – 2013. – Vol. 14, N 3. – P. 206–213. <https://doi.org/10.2459/JCM.0b013e32835cecc6>
15. Кардіопротекторна ефективність дистантного ішемічного посткондиціонування при ішемії-реперфузії міокарда у старих крыс / Ф. И. Висмонт [и др.] // *БГМУ в авангарде медичинської науки і практики : сб. рец. науч. работ / Белорус. гос. мед. ун-т ; под ред. А. В. Сикорского, О. К. Дорониной.* – Минск, 2017. – Вып. 7. – С. 181–186.
16. Zhou, C. Stenting technique, gender, and age are associated with cardioprotection by ischaemic postconditioning in primary coronary intervention: a systematic review of 10 randomized trials / C. Zhou [et al.] // *Eur. Heart J.* – 2012. – Vol. 33, N 24. – P. 3070–3077. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehs265>
17. Interaction of risk factors, comorbidities, and comedications with ischemia/reperfusion injury and cardioprotection by preconditioning, postconditioning, and remote conditioning / P. Ferdinandy [et al.] // *Pharmacol. Rev.* – 2014. – Vol. 66, N 4. – P. 1142–1174. <https://doi.org/10.1124/pr.113.008300>
18. Boengler, K. Loss of cardioprotection with ageing / K. Boengler, R. Schulz, G. Heusch // *Cardiovasc. Res.* – 2009. – Vol. 83, N 2. – P. 247–261. <https://doi.org/10.1093/cvr/cvp033>
19. Aging mouse hearts are refractory to infarct size reduction with postconditioning / K. Przyklenk [et al.] // *J. Am. Coll. Cardiol.* – 2008. – Vol. 51, N 14. – P. 1393–1398. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2007.11.070>
20. Conditioning-induced cardioprotection: aging as a confounding factor / K. R. Puneet [et al.] // *Korean J. Physiol. Pharmacol.* – 2018. – Vol. 22, N 5. – P. 467–479. <https://doi.org/10.4196/kjpp.2018.22.5.467>
21. Висмонт, Ф. И. Периферические М-холинореактивные системы в реализации инфаркт-лимитирующего эффекта дистантного ишемічного посткондиціонування при ішемії-реперфузії міокарда в експерименте / Ф. И. Висмонт, С. Н. Чепелев, П. Ф. Юшкевич // *Вестн. Нац. акад. навук Беларусі. Сер. мед. навук.* – 2019. – Т. 16, № 4. – С. 424–433.
22. Биология старения / В. В. Фролькис [и др.] ; редкол. : В. В. Фролькис (отв. ред.) [и др.]. – Ленинград : Наука, Ленингр. отд-ние, 1982. – 618 с.
23. Фролькис, В. В. Нервная регуляция функции сердца при старении / В. В. Фролькис, Н. С. Верхратский, В. Г. Шевчук // *Физиол. журн. СССР.* – 1977. – Т. 63, № 8. – С. 1134–1143.
24. Acetylcholine as an age-dependent non-neuronal source in the heart / O. R. Rana [et al.] // *Autonom. Neurosci.* – 2010. – Vol. 156, N 1–2. – P. 82–89. <https://doi.org/10.1016/j.autneu.2010.04.011>
25. Оксид азота (NO) и цикл NO в миокарде: молекулярные, биохимические и физиологические аспекты / В. П. Реутов [и др.] // *Успехи физиол. наук.* – 2007. – Т. 38, № 4. – С. 39–58.
26. Exogenous nitric oxide can trigger a preconditioned state through a free radical mechanism, but endogenous nitric oxide is not a trigger of classic ischemic preconditioning / A. Nakano [et al.] // *J. Mol. Cell. Cardiol.* – 2000. – Vol 32, N 7. – P. 1159–1167. <https://doi.org/10.1006/jmcc.2000.1152>
27. NO в сигнальном каскаде фармакологического прекодиціонування при ішемії-реперфузії міокарда / Л. Н. Даниленко [и др.] // *Ведомости Науч. центра экспертизы средств мед. применения.* – 2015. – № 2. – С. 40–44.
28. Даниленко, Л. М. Роль оксида азота в сигнальном каскаде ішемічного прекодиціонування при ішемічних-реперфузійних пошкодженнях міокарда / Л. М. Даниленко // *Науч. ведомости Белгород. гос. ун-та. Сер. Медицина. Фармация.* 2014. – № 11–1. – С. 5–18.
29. Attenuation of myocardial ischemia/reperfusion injury by superinduction of inducible nitric oxide synthase / S. Kanno [et al.] // *Circulation.* – 2000. – Vol. 101, N 23. – P. 2742–2748. <https://doi.org/10.1161/01.cir.101.23.2742>
30. Роль свободных радикалов кислорода в механизмах локального и дистантного ішемічного прекодиціонування міокарда / Н. Н. Петрищев [и др.] // *Вестн. РАМН.* – 2006. – № 8. – С. 10–15.
31. Council Directive 86/609/EEC of 24 November 1986 on the approximation of laws, regulations and administrative provisions of the Member States regarding the protection of animals used for experimental and other scientific purposes [Electronic resource]. – Mode of access: www.eur-lex.europa.eu. – Date of access: 10.03.2020.
32. Технический кодекс установившейся практики 125-2008 «Надлежащая лабораторная практика», утв. постановлением М-ва здравоохран. Респ. Беларусь № 56 от 28.03.2008 г. – Минск, 2008. – 35 с.
33. Ветеринарно-санитарные правила по приему, уходу и вскрытию подопытных животных в вивариях научно-исследовательских институтов, станциях, лабораториях, учебных заведениях, а также в питомниках // *Нац. фонд техн. норм. правовых актов Респ. Беларусь [Электронный ресурс].* – Режим доступа: <http://www.tnra.by/#!/FileText/348641/250983>. – Дата доступа: 10.03.2020.

34. О нормах кормления лабораторных животных и продуцентов: приказ М-ва здравоохранения СССР от 10 марта 1966 г. № 163 // Правовая Россия [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://lawru.info/dok/1966/03/10/n1190735.htm>. – Дата доступа: 10.03.2020.

35. Coronary artery ligation in anesthetized rats as a method for the production of experimental dysrhythmias and for the determination of infarct size / C. Clark [et al.] // *J. Pharmacol. Meth.* – 1980. – Vol. 3, N 4. – P. 357–368. [https://doi.org/10.1016/0160-5402\(80\)90077-7](https://doi.org/10.1016/0160-5402(80)90077-7)

36. Early phase acute myocardial infarct size quantification: validation of the triphenyl tetrazolium chloride tissue enzyme staining technique / M. C. Fishbein [et al.] // *Am. Heart J.* – 1981. – Vol. 101, N 5. – P. 593–600. [https://doi.org/10.1016/0002-8703\(81\)90226-x](https://doi.org/10.1016/0002-8703(81)90226-x)

References

1. Mrochek A. G., Grakovich A. A., Kozlov I. D., Gorbachev V. V. *Cardiovascular diseases in the Republic of Belarus: the analysis of the situation and control strategy*. Minsk, Belaruskaya navuka Publ., 2011. 340 p. (in Russian).

2. Shlyakhto E. V., Nifontov E. M., Galagudza M. M. Limitation of ischemic and reperfusion injury of the myocardium using pre- and postconditioning: molecular mechanisms and targets for pharmacotherapy. *Kreativnaya kardiologiya = Creative cardiology*, 2007, no. 1–2, pp. 75–101 (in Russian).

3. Bautin A. E., Karpova L. I., Marichev A. O., Tashkhanov D. M., Naumenko V. S., Galagudza M. M. Cardioprotective effects of ischemic conditioning: current concepts of mechanisms, experimental evidence, clinical implementation. *Translyatsionnaya meditsina = Translational medicine*, 2016, vol. 3, no. 1, pp. 50–62 (in Russian).

4. Maslov L. N., Tsubul'nikov S. Yu., Tsepokina A. V., Khutornaya M. V., Kutikhin A. G., Gurin A. V., Basalai M. V., Mrochek A. G. Cardioprotective effect of distant postconditioning: mechanisms and clinical applicability. *Klinicheskaya meditsina = Clinical medicine*, 2016, vol. 94, no. 9, pp. 650–656 (in Russian).

5. Balakumar P., Rohilla A., Singh M. Pre-conditioning and postconditioning to limit ischemia-reperfusion-induced myocardial injury: what could be the next footstep? *Pharmacological Research*, 2008, vol. 57, no. 6, pp. 403–412. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2008.05.006>

6. Basalai M., Barsukevich V., Mastitskaya S., Mrochek A., Pernow J., Sjöquist P. O., Ackland G. L., Gourine A. V., Gourine A. Remote ischaemic pre- and delayed postconditioning – similar degree of cardioprotection but distinct mechanisms. *Experimental Physiology*, 2012, vol. 97, no. 8, pp. 908–917. <https://doi.org/10.1113/expphysiol.2012.064923>

7. Vismont F. I., Chepelev S. N., Glebov A. N., Vismont A. F., Yushkevich P. F. Cardioprotective efficacy of distant ischemic preconditioning in myocardial ischemia-reperfusion in rats with experimental dyslipidemia. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya medytsynskikh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2018, vol. 15, no. 2, pp. 215–221 (in Russian).

8. Schmidt M. R., Kristiansen S. B., Bøtker H. E. Remote ischemic preconditioning: no loss in clinical translation. *Circulation Research*, 2013, vol. 113, no. 12, pp. 1278–1280. <https://doi.org/10.1161/circresaha.113.302942>

9. Zhao Z.-Q., Corvera J. S., Halcos M. E., Kerendi F., Wang N. P., Guyton R. A., Vinten-Johansen J. Inhibition of myocardial injury by ischemic postconditioning during reperfusion: comparison with ischemic preconditioning. *American Journal of Physiology – Heart and Circulatory Physiology*, 2003, vol. 285, pp. H579–H588. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.01064.2002>

10. Hu L., Wang J., Zhu H., Wu X., Zhou L., Song Y., Zhu S., Liu C., Fan J., Wang Y., Li Q. Ischaemic postconditioning protects the heart against ischemia-reperfusion injury, via neuronal nitric oxide synthase in the sarcoplasmic reticulum and mitochondria. *Cell Death and Diseases*, 2016, vol. 7, no. 5, pp. e2222. <https://doi.org/10.1038/cddis.2016.108>

11. Maslov L. N., Mrochek A. G., Khaliulin I. G., Khanush L., Pei Zh. M., Zhang I. The adaptive phenomenon of ischemic postconditioning of the heart. Prospects for clinical use. *Vestnik Rossiiskoi akademii meditsinskikh nauk = Annals of the Russian academy of medical sciences*, 2013, vol. 68, no. 1, pp. 10–20 (in Russian).

12. Maslov L. N., Tsubul'nikov S. Yu., Mukhomedzyanov A. V., Sementsov A. S., Tsepokina A. V., Khutornaya M. V., Kutikhin A. G., Nam I. F. Postconditioning of the heart: analysis of experimental and clinical data. *Vestnik Rossiiskoi akademii meditsinskikh nauk = Bulletin of the Russian Academy of Medical Sciences*, 2016, vol. 71, no. 1, pp. 25–30 (in Russian). <https://doi.org/10.15690/vramn628>

13. Shlyakhto E. V., Galagudza M. M., Syrenskii A. V., Nifontov E. M. Cardioprotective effects of the phenomenon of ischemic postconditioning of the myocardium. *Kardiologiya = Cardiology*, 2005, vol. 45, no. 7, pp. 44–48 (in Russian).

14. Vinten-Johansen J., Shi W. The science and clinical translation of remote postconditioning. *Journal of Cardiovascular Medicine*, 2013, vol. 14, no. 3, pp. 206–213. <https://doi.org/10.2459/JCM.0b013e32835cecc6>

15. Vismont F. I., Chepelev S. N., Glebov A. N., Yushkevich P. F. Cardioprotective efficiency of remote ischemic postconditioning during ischemia-reperfusion in old rats. *Belorusskii gosudarstvennyi meditsinskii universitet v avangarde meditsinskoi nauki i praktiki: sbornik retsenziruemykh nauchnykh rabot. Vypusk 7* [Belarusian State Medical University at the forefront of medical science and practice: a collection of peer-reviewed scientific papers. Iss. 7]. Minsk, 2017, pp. 181–186 (in Russian).

16. Zhou C., Yuntai Y., Zhe Z., Junsong G., Weipeng W., Shengshou H., Lihuan L. Stenting technique, gender, and age are associated with cardioprotection by ischaemic postconditioning in primary coronary intervention: a systematic review of 10 randomized trials. *European Heart Journal*, 2012, vol. 33, no. 24, pp. 3070–3077. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehs265>

17. Ferdinandy P., Hausenloy D. J., Heusch G., Baxter G. F., Schulz R. Interaction of risk factors, comorbidities, and comedications with ischemia/reperfusion injury and cardioprotection by preconditioning, postconditioning, and remote conditioning. *Pharmacological Reviews*, 2014, vol. 66, no. 4, pp. 1142–1174. <https://doi.org/10.1124/pr.113.008300>

18. Boengler K., Schulz R., Heusch G. Loss of cardioprotection with ageing. *Cardiovascular Research*, 2009, vol. 83, no. 2, pp. 247–261. <https://doi.org/10.1093/cvr/cvp033>
19. Przyklenk K., Maynard M., Darling C. E., Whittaker P. Aging mouse hearts are refractory to infarct size reduction with postconditioning. *Journal of the American College of Cardiology*, 2008, vol. 51, no. 14, pp. 1393–1398. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2007.11.070>
20. Randhawa P. K., Bali A., Viridi J. K., Jaggi A. S. Conditioning-induced cardioprotection: Aging as a confounding factor. *Korean Journal of Physiology and Pharmacology*, 2018, vol. 22, no. 5, pp. 467–479. <https://doi.org/10.4196/kjpp.2018.22.5.467>
21. Vismont F. I., Chepelev S. N., Yushkevich P. F. Peripheral M-choline-reactive systems in the infarct-limited effect implementation of remote ischemic postconditioning during ischemia-reperfusion of myocardium in experiment. *Vesti Natsyynal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya medytsynskikh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2019, vol. 16, no. 4, pp. 424–433 (in Russian).
22. Frol'kis V. V. (ed.). *Biology of aging*. Leningrad, Nauka, Leningradskoe otdelenie Publ., 1982. 618 p. (in Russian).
23. Frol'kis V. V., Verkhatskii N. S., Shevchuk V. G. Nervous regulation of heart function during aging. *Fiziologicheskii zhurnal SSSR im. I. M. Sechenova* [Sechenov physiological journal of the USSR], 1977, vol. 63, no. 8, pp. 1134–1143 (in Russian).
24. Rana O. R., Schauerte P., Kluttig R., Schröder J. W., Koenen R. R., Weber C., Nolte K. W., Weis J., Hoffmann R., Marx N., Saygili E. Acetylcholine as an age-dependent non-neuronal source in the heart. *Autonomic Neuroscience*, 2010, vol. 156, no. 1–2, pp. 82–89. <https://doi.org/10.1016/j.autneu.2010.04.011>
25. Reutov V. P., Okhotin V. E., Shuklin A. V., Sorokina E. G., Kositsyn N. S., Gurin V. N. Nitric oxide (NO) and the NO cycle in the myocardium: molecular, biochemical and physiological aspects. *Uspekhi fiziologicheskikh nauk* [Frontiers of physiology sciences], 2007, vol. 38, no. 4, pp. 39–58 (in Russian).
26. Nakano A., Liu G. S., Heusch G., Downey J. M., Cohen M. V. Exogenous nitric oxide can trigger a preconditioned state through a free radical mechanism, but endogenous nitric oxide is not a trigger of classic ischemic preconditioning. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*, 2000, vol. 32, no. 7, pp. 1159–1167. <https://doi.org/10.1006/jmcc.2000.1152>
27. Danilenko L. M., Pokrovskii M. V., Denisjuk T. A., Kolesnik I. M., Alekhin S. A NO in the signaling cascade of pharmacological preconditioning for myocardial ischemia-reperfusion. *Vedomosti Nauchnogo tsentra ekspertizy sredstv meditsinskogo primeneniya* [Vedomosti scientific center for expertise in medical applications], 2015, no. 2, pp. 40–44.
28. Danilenko L. M. The role of nitric oxide in the signaling cascade of ischemic preconditioning for ischemic-reperfusion injury of the myocardium. *Nauchnye vedomosti Belgorodskogo gosudarstvennogo universiteta. Seriya: Meditsina. Farmatsiya* [Scientific reports of Belgorod State University. Series: Medicine. Pharmacy], 2014, no. 11–1, pp. 5–18 (in Russian).
29. Kanno S., Lee P. C., Zhang Y., Ho Ch., Griffith B. P., Shears L. L., Billiar T. R. Attenuation of myocardial ischemia/reperfusion injury by superinduction of inducible nitric oxide synthase. *Circulation*, 2000, vol. 101, no. 23, pp. 2742–2748. <https://doi.org/10.1161/01.cir.101.23.2742>
30. Petrishchev N. N., Shlyakhto E. V., Tsyrlin V. A., Vlasov T. D., Syrenskii A. V., Galagudza M. M. Role of oxygen free radicals in the mechanisms of local and distant ischemic myocardial preconditioning. *Vestnik Rossiiskoi akademii meditsinskikh nauk* [Bulletin of the Russian Academy of Medical Sciences], 2006, no. 8, pp. 10–15 (in Russian).
31. *Council Directive 86/609/EEC of 24 November 1986 on the approximation of laws, regulations and administrative provisions of the Member States regarding the protection of animals used for experimental and other scientific purposes*. Available at: <http://www.eur-lex.europa.eu> (accessed 10.03.2020).
32. *Technical Code of Good Practice 125-2008. Good Laboratory Practice, approved by the Republic of Belarus Ministry of Health decree № 56 from 28.03.2008*. Minsk, 2008. 35 p. (in Russian).
33. The animal health rules for the reception, care and dissection of the experimental animals in the vivarium research institutes, stations, laboratories, schools and nurseries. *National Fund of Technical Legal Acts of the Republic of Belarus*. Available at: <http://www.tnpu.by/#!/FileText/348641/250983> (accessed 10.03.2020) (in Russian).
34. On the norms of feeding laboratory animals and producers: order of the USSR Ministry of Health on March 10, 1966 N 163. *Legal Russia*. Available at: <http://lawru.info/dok/1966/03/10/n1190735.htm> (accessed 10.03.2020) (in Russian).
35. Clark C., Foreman M. I., Kane K. A., McDonald F. M., Parratt J. R. Coronary artery ligation in anesthetized rats as a method for the production of experimental dysrhythmias and for the determination of infarct size. *Journal of Pharmacological Methods*, 1980, vol. 3, no. 4, pp. 357–368. [https://doi.org/10.1016/0160-5402\(80\)90077-7](https://doi.org/10.1016/0160-5402(80)90077-7)
36. Fishbein M. C., Meerbaum S., Rit J., Lando U., Kanmatsuse K., Mercier J. C., Corday E., Ganz W. Early phase acute myocardial infarct size quantification: validation of the triphenyl tetrazolium chloride tissue enzyme staining technique. *American Heart Journal*, 1981, vol. 101, no. 5, pp. 593–600. [https://doi.org/10.1016/0002-8703\(81\)90226-x](https://doi.org/10.1016/0002-8703(81)90226-x)

Информация об авторах

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

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

Information about the authors

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

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

ISSN 1814-6023 (Print)

ISSN 2524-2350 (Online)

УДК 612.826.33.018:[616.329/.33-008.1+616.24-008.44]

<https://doi.org/10.29235/1814-6023-2020-17-3-364-371>

Поступила в редакцию 10.01.2020

Received 10.01.2020

О. А. Карпович, В. И. Шишко

Гродненский государственный медицинский университет, Гродно, Республика Беларусь

ЭКСПРЕССИЯ РЕЦЕПТОРОВ МЕЛАТОНИНА ПРИ ГАСТРОЭЗОФАГЕАЛЬНОЙ РЕФЛЮКСНОЙ БОЛЕЗНИ, АССОЦИИРОВАННОЙ С СИНДРОМОМ ОБСТРУКТИВНОГО АПНОЭ/ГИПОПНОЭ ВО СНЕ

Аннотация. Оценена экспрессия рецепторов мелатонина (MTNR1B) в слизистой оболочке пищевода при гастроэзофагеальной рефлюксной болезни (ГЭРБ), ассоциированной с синдромом обструктивного апноэ/гипопноэ во сне (СОАГС), и изучена связь выявленных изменений с тяжестью апноэ сна.

Обследовано 25 пациентов с ГЭРБ (группа 1), 23 – с ГЭРБ в сочетании с СОАГС (группа 2) и 18 – с СОАГС (группа 3). Средний возраст обследуемых – 48,1 ± 9,8 года. Группа сравнения (группа 4) включала 18 человек без ГЭРБ и апноэ во сне. Экспрессию MTNR1B в слизистой оболочке пищевода определяли иммуногистохимическим методом, используя специфические антитела. Статистический анализ материала проводили с помощью пакета программ Statistica 10.0.

Показано, что у пациентов группы 2 более высокая интенсивность экспрессии MTNR1B, чем у пациентов группы 1 (0,122 [0,064; 0,266] vs 0,620 [0,332; 0,983]; $p = 0,00001$) и группы 3 (0,620 [0,332; 0,983] vs 0,232 [0,120; 0,418]; $p = 0,0098$). Отмечалось увеличение интенсивности экспрессии MTNR1B с нарастанием тяжести апноэ во сне: 0,295 [0,198; 0,403] у пациентов с апноэ легкой степени тяжести против 0,941 [0,345; 0,992] у пациентов с апноэ средней и тяжелой степени ($p = 0,0021$). Выявлена прямая связь интенсивности экспрессии MTNR1B со степенью тяжести апноэ во сне ($r = 0,50$; $p = 0,0016$).

Установлено, что у пациентов с ГЭРБ в сочетании с СОАГС повышение интенсивности экспрессии MTNR1B ассоциировано со степенью тяжести апноэ. Выявленные у данной категории пациентов особенности экспрессии могут свидетельствовать о снижении чувствительности рецепторов MTNR1B, обусловленном хронической гипоксией, характерной для апноэ во сне.

Ключевые слова: рецептор мелатонина, MTNR_{1B}, экспрессия рецепторов, мелатонин, 6-сульфатоксимелатонин, гастроэзофагеальная рефлюксная болезнь, синдром обструктивного апноэ/гипопноэ сна

Для цитирования: Карпович, О. А. Экспрессия рецепторов мелатонина при гастроэзофагеальной рефлюксной болезни, ассоциированной с синдромом обструктивного апноэ/гипопноэ во сне / О. А. Карпович, В. И. Шишко // Вес. Нац. акад. наук Беларусі. Сер. мед. навук. – 2020. – Т. 17, № 3. – С. 364–371. <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2020-17-3-364-371>

Alesia A. Karpovich, Vitaliy I. Shyshko

Grodno State Medical University, Grodno, Republic of Belarus

EXPRESSION OF MELATONIN RECEPTORS IN THE GASTROESOPHAGEAL REFLUX DISEASE ASSOCIATED WITH OBSTRUCTIVE SLEEP APNEA/HYPOPNEA SYNDROME

Abstract. The aim of the present research was to assess the expression of melatonin receptors (MTNR1B) in the esophageal mucosa in the gastroesophageal reflux disease associated with obstructive sleep apnea/hypopnea syndrome and to study the relationship between the detected changes and the sleep apnea severity.

84 patients aged 30–60 years, including those with gastroesophageal reflux disease (group 1, $n = 25$), those with gastroesophageal reflux disease associated with sleep apnea/hypopnea (group 2, $n = 23$), those with obstructive sleep apnoe/hypopnoe syndrome (group 3, $n = 18$), and almost healthy people (group 4, $n = 18$), were studied. Diagnoses were based on endoscopic imaging and respiratory monitoring. The MTNR1B expression in the esophageal mucosa was determined by the immunohistochemical method using specific antibodies. The MTNR_{1B} expression was evaluated quantitatively using the computer program Aperio ImageScope_v9.1.19.1567.

The obtained material was analyzed statistically using the software Statistica 10.0.

The group 2 patients were shown to have a higher MTNR1B expression compared to the group 1 patients (0.122 [0.064; 0.266] versus 0.620 [0.332; 0.983]; $p = 0.00001$) and the group 3 patients (0.620 [0.332; 0.983] versus 0.232 [0.120; 0.418]; $p = 0.0098$). The MTNR_{1B} expression increased with growing sleep apnea severity: it is 0.295 [0.198; 0.403] in patients with

mild apnea versus 0.941 [0.345; 0.992] in patients with moderate and severe apnea ($p = 0.0021$). A direct correlation between the MTNR1B expression and the sleep apnea severity degree ($r = 0.50$; $p = 0.0016$) was revealed.

Patients with gastroesophageal reflux disease combined with sleep apnea revealed an increase in the MTNR1B expression associated with the apnea severity. The revealed features of the MTNR1B expression secondary to esophageal mucosal damage indicate the MTNR1B inactivation secondary to accompanying apnea of hypoxia.

Keywords: melatonin receptors, MTNR1B, expression of receptors, melatonin, 6-sulfatoxymelatonin, gastroesophageal reflux disease, obstructive sleep apnea/hypopnea syndrome

For citation: Karpovich A. A., Shyshko V. I. Expression of melatonin receptors in the gastroesophageal reflux disease associated with obstructive sleep apnea/hypopnea syndrome. *Vesti Natsyonal'noi akademii nauk Belarusi. Seriya meditsinskikh nauk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2020, vol. 17, no. 3, pp. 364–371 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2020-17-3-364-371>

Введение. Согласно данным метаанализа, опубликованным в 2019 г. в журнале *The Lancet*, распространенность обструктивного апноэ во сне в некоторых странах превышает 50 %. Во всем мире 936 млн взрослых в возрасте 30–69 лет страдают синдромом обструктивного апноэ/гипопноэ во сне (СОАГС) от легкой до тяжелой степени тяжести, 425 млн взрослых – от умеренной до тяжелой степени [1]. Актуальность изучения СОАГС обусловлена не только его высокой распространенностью, но и клинической значимостью. Высокая распространенность СОАГС отмечается среди пациентов с гастроэзофагеальной рефлюксной болезнью (ГЭРБ) [2]. Результаты проведенного нами исследования показали, что у 51,6 % (95 % ДИ: 41,6–61,5) пациентов с ГЭРБ имеется СОАГС, при этом у 40 % из них отмечается СОАГС умеренной и тяжелой степени тяжести [3].

Многочисленные исследования доказывают негативное влияние СОАГС на течение ГЭРБ. Согласно результатам исследования Duke University Medical Center, если пациент страдает СОАГС, то вероятность развития у него эзофагита возрастает до 76 %. ГЭРБ в сочетании с СОАГС носит рефрактерный к обычной антисекреторной терапии характер, при этом проведение СИПАП-терапии способствует уменьшению частоты ночных симптомов ГЭРБ [4]. Кроме того, установлена связь СОАГС и его тяжести с развитием пищевода Барретта, который является грозным осложнением при ГЭРБ [5].

В последние годы все большее внимание исследователей привлекают сведения о важной роли гормона мелатонина в регуляции различных физиологических процессов в организме человека. Имеются данные о том, что мелатонин повышает защитные свойства эпителия желудочно-кишечного тракта путем улучшения микроциркуляции [6], регуляции клеточной пролиферации и повышения плотности межэпителиальных контактов [7, 8]. Синтез мелатонина эпифизом характеризуется четкой циркадной ритмикой: секреция этого гормона происходит преимущественно в темное время суток и резко подавляется на свету [9, 10]. При нарушении сна изменяется ритмичность секреции мелатонина. В научных базах встречаются исследования, в которых указывается на то, что нарушения синтеза мелатонина у пациентов с СОАГС заключаются в снижении его выработки в ночные часы либо в смещении ночной фазы синтеза этого гормона на дневные часы [11, 12]. Учитывая перечисленные факты, можно предположить, что изменения синтеза мелатонина или нарушения регуляторной роли этого гормона у пациентов с ГЭРБ в сочетании с СОАГС (ГЭРБ-СОАГС) могут лежать в основе снижения защитных свойств эпителия пищевода.

Эффекты мелатонина опосредуются через специфические мембранные рецепторы, причем реакция клеток зависит от интенсивности экспрессии ими этих рецепторов. У млекопитающих, в том числе у человека, изучены мембранные рецепторы мелатонина двух типов: MTNR1A и MTNR1B. По мнению ряда исследователей, основным рецептором мелатонина в желудочно-кишечном тракте является рецептор MTNR1B [13]. Работ по изучению экспрессии MTNR1B в слизистой оболочке пищевода при ГЭРБ, ассоциированной с СОАГС, нами не найдено.

Цель работы – оценка экспрессии рецепторов мелатонина (MTNR1B) в слизистой оболочке пищевода при гастроэзофагеальной рефлюксной болезни, ассоциированной с синдромом обструктивного апноэ/гипопноэ во сне, и изучение связи выявленных изменений с тяжестью апноэ во сне.

Материалы и методы исследования. В исследование были включены 84 пациента (56 (66,7 %) мужчин, 28 (33,3 %) женщин) в возрасте 30–60 лет (средний возраст $48,1 \pm 9,3$ года), находившихся на лечении в кардиологическом и терапевтическом отделениях УЗ «Городская клиническая

больница № 2 г. Гродно» в период с 2017 по 2019 г., а также пациенты с диагнозом ГЭРБ, состоящие на диспансерном учете у гастроэнтеролога ГУЗ «Гродненская центральная городская поликлиника». Выборка была сформирована согласно критериям включения и невключения. Исследование было проведено с учетом требований Хельсинкской декларации «Этические принципы проведения медицинских исследований с участием людей в качестве субъектов исследования» с поправкой 2013 г. Работа была одобрена локальным Комитетом по биомедицинской этике (протокол № 1 от 11.01.2017 г.). У всех пациентов было получено письменное информированное согласие на участие в исследовании. В структуре ГЭРБ преобладали пациенты с катаральным рефлюкс-эзофагитом (77,1 %; 95 % ДИ: 63,3–86,9).

Критерии включения в исследование: наличие у пациентов сочетания типичных для ГЭРБ жалоб (изжога, кислая/горькая отрыжка и регургитация) и визуально различимого при эндоскопическом исследовании рефлюкс-эзофагита, а также типичные для СОАГС жалобы (регулярный храп во время сна, указания на остановки дыхания во сне, выраженная дневная сонливость).

Критерии невключения: заболевания пищевода нерезлюксной этиологии, язва желудка и двенадцатиперстной кишки в стадии обострения, состояния после операций на пищеводе и желудке, злокачественные новообразования любой локализации и стадии, а также заболевания и состояния, которые могли бы исказить уровни и циркадный ритм мелатонина (кроме СОАГС), повлиять на его распад и выделение с мочой, прием снотворных, антидепрессантов и препаратов, содержащих мелатонин.

Диагноз ГЭРБ выставляли согласно рекомендациям Монреальского консенсуса 2006 г. [14] и Клиническому протоколу «Диагностика и лечение пациентов с заболеваниями органов пищеварения», утвержденного 01.06.2017 постановлением № 54 Министерства здравоохранения Республики Беларусь.

Всем пациентам была проведена эзофагогастродуоденоскопия эндоскопом GIF V70 (Olympus, Япония).

С целью выявления СОАГС проводили респираторное мониторирование с помощью системы SOMNOcheck micro (Weinmann, Германия). Регистрировали 4 показателя: носовой поток воздуха, храп, пульс и насыщение крови кислородом, что позволяет выявлять СОАГС и оценивать степень его тяжести. СОАГС диагностировали при индексе апноэ/гипопноэ (ИАГ) ≥ 5 за 1 ч исследования.

На основании результатов обследования были сформированы группы: группа 1 ($n = 25$) – пациенты с ГЭРБ, группа 2 ($n = 23$) – лица с ГЭРБ в сочетании с СОАГС (ГЭРБ-СОАГС), группа 3 ($n = 18$) – пациенты с СОАГС, группа 4 ($n = 18$) – лица без ГЭРБ и СОАГС.

Материал для гистологического исследования прицельно забирали при ЭГДС из участков с максимальной выраженностью структурных изменений слизистой оболочки дистального отдела пищевода. При отсутствии макроскопических изменений слизистой оболочки биопсию выполняли из нижней трети пищевода – на 1 см выше условной циркулярной линии, соединяющей проксимальные концы складок желудка. Иммуногистохимическое исследование проводили на серийных парафиновых срезах, используя антитела к рецептору мелатонина 1В в стандартном разведении 1:100 (Novus Biologicals, США). Количественную оценку экспрессии рецепторов мелатонина проводили при помощи компьютерной программы Aperio ImageScope_v9.1.19.1567. Интенсивность экспрессии MTNR1B оценивали исходя из показателя «позитивность», определяемого компьютерной программой. Данный показатель представляет собой отношение количества позитивно окрашенных пикселей к общему количеству пикселей на оцениваемых участках. Уровень экспрессии оценивали по балльной системе (от 0 до 5 баллов), учитывая показатель «позитивности»: 0 баллов (негативное окрашивание) – отсутствие экспрессии; 1 балл – показатель «позитивности» $\leq 0,20$ (очень низкий); 2 балла – от 0,21 до 0,40 (низкий); 3 балла – от 0,41 до 0,60 (умеренный); 4 балла – от 0,61 до 0,8 (высокий); 5 баллов – $>0,80$ (очень высокий). Все исследования выполняли перед началом лечения.

Для статистического анализа материала использовали пакет программ Statistica 10.0 (StatSoft, Inc., 2011). С учетом несоответствия большинства выборок критериям нормального распределения при анализе данных применяли методы непараметрической статистики. Количественные пока-

затели, распределение которых отличалось от нормального, описывали с помощью медианы (Me) и интерквартильного размаха (25 %; 75 %); имеющие нормальное распределение, – с использованием средних арифметических величин (M) и стандартных отклонений (SD). При сравнении количественных показателей между четырьмя независимыми выборками использовали критерий Краскела–Уоллиса (H). В случае обнаружения статистически значимых различий между группами, дополнительно проводили апостериорные сравнения, используя поправку Данна. С целью изучения связи между явлениями рассчитывали коэффициент ранговой корреляции Спирмена (r). Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты исследования. Пациенты исследуемых групп были сопоставимы по возрасту и полу (табл. 1).

Таблица 1. Возрастно-половой состав пациентов исследуемых групп

Table 1. Age and gender composition in the study group patients

Показатель	Группа 1 (n = 25)	Группа 2 (n = 23)	Группа 3 (n = 18)	Группа 4 (n = 18)	p
Возраст обследуемых, лет	45,3 ± 10,0	49,6 ± 9,4	51,7 ± 6,7	46,2 ± 9,7	0,11
Лица мужского пола, %	19 (76 %)	18 (78,3)	9 (50 %)	9 (50 %)	0,057

Анализ экспрессии рецепторов мелатонина у пациентов исследуемых групп выявил следующую закономерность: самые низкие показатели позитивности MTNR1B отмечались у пациентов с ГЭРБ, а самые высокие – у лиц с ГЭРБ-СОАГС. При сравнении групп с использованием критерия Краскела–Уоллиса выявлены статистически значимые различия экспрессии MTNR1B ($H = 25,12; p = 0,0000$) (табл. 2).

Таблица 2. Интенсивность экспрессии MTNR1B у пациентов исследуемых групп (Me [25 %; 75 %])

Table 2. MTNR1B expression intensity in the study patients (Me [25 %; 75 %])

Показатель	Группа 1 (n = 25)	Группа 2 (n = 23)	Группа 3 (n = 18)	Группа 4 (n = 18)
Экспрессия MTNR _{1B}	0,122* [0,064; 0,266]	0,620#& [0,332; 0,983]	0,232 [0,120; 0,418]	0,437 [0,202; 0,692]

Примечание. Статистически значимые отличия ($p < 0,05$) между группами: * – 1 и 4; # – 2 и 1; & – 2 и 3.

При проведении апостериорных сравнений установлены достоверные различия интенсивности экспрессии MTNR1B между группами 1 и 4 ($p = 0,035$), 1 и 2 ($p = 0,00001$) и 2 и 3 ($p = 0,0098$). Значимых различий в интенсивности экспрессии MTNR1B между группами 2 и 4, 3 и 4 не выявлено ($p > 0,05$).

Высокий и очень высокий уровни экспрессии MTNR1B наблюдались у 52,2 % (95 % ДИ: 33,0–70,8) пациентов с ГЭРБ в сочетании с СОАГС, в то время как у пациентов с изолированной ГЭРБ высокий уровень экспрессии отмечался лишь в 4 % случаев (95 % ДИ: <0,01–21,1). Распределение пациентов в группах по уровню экспрессии MTNR1B представлено в табл. 3.

Таблица 3. Распределение пациентов по уровню экспрессии MTNR1B, n/%

Table 3. MTNR1B expression level distribution in the study patients, n/%

Уровень экспрессии	Группа 1 (n = 25)	Группа 2 (n = 23)	Группа 3 (n = 18)	Группа 4 (n = 18)	p
1 (очень низкий)	18/72,0	3/13,0	8/44,4	3/15,8	$p_{1-4} = 0,00004;$ $p_{1-2} = 0,0015$
2 (низкий)	2/8,0	5/21,7	4/22,2	5/26,3	>0,05
3 (умеренный)	4/16,0	3/13,0	2/11,1	5/26,3	>0,05
4 (высокий)	1/4,0	2/8,7	1/5,6	4/21,1	>0,05
5 (очень высокий)	0	10/43,5	3/16,7	1/5,3	$p_{2-4} = 0,007;$ $p_{1-2} = 0,00017$

На рис. 1, 2 представлены микрофотографии фрагментов слизистой оболочки пищевода пациентов с ГЭРБ и ГЭРБ-СОАГС.

Для изучения влияния апноэ во сне на экспрессию MTNR1B из общей когорты обследуемых был отобран 41 человек с СОАГС. По данным респираторного мониторинга, у 25 (61,0 %; 95 % ДИ: 45,7–74,4) человек был диагностирован СОАГС легкой степени, у 12 (29,3 %; 95 % ДИ: 17,5–44,6) – средней степени и у 4 (9,7 %; 95 % ДИ: 3,3–23,1) – тяжелой степени. Учитывая небольшое число лиц с апноэ тяжелой степени, они были объединены в одну группу с пациентами с апноэ средней степени тяжести. В зависимости от тяжести СОАГС были сформированы две группы: группа I ($n = 25$) – пациенты с апноэ легкой степени тяжести, группа II ($n = 16$) – лица с апноэ средней и тяжелой степени. Показатели экспрессии MTNR1B во вновь сформированных группах: группа I – 0,295 (0,198; 0,403), группа II – 0,941 (0,345; 0,992) ($p = 0,0021$). Результаты анализа показали достоверное увеличение интенсивности экспрессии MTNR1B с нарастанием тяжести СОАГС.

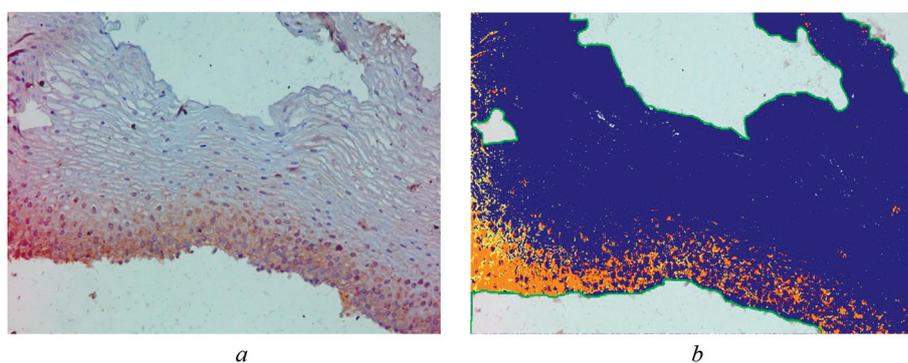


Рис. 1. Угнетение экспрессии рецепторов MTNR1B эпителиоцитами дистального отдела пищевода пациента с ГЭРБ: *a* – окраска с использованием антител к MTNR_{1B} в разведении 1:10; *b* – результат работы алгоритма «positive pixel count» программы Aperio ImageScope (красные поля – выраженная экспрессия, оранжевые – умеренно выраженная, желтые – слабовыраженная, синяя окраска – отсутствие экспрессии). ×20

Fig. 1. Suppression of the receptor MTNR1B expression by the epithelial distal esophagus cells of a patient with gastroesophageal reflux disease: *a* – staining using antibodies to MTNR_{1B} in the 1:100 dilution; *b* – result of the “positive pixel count” algorithm of the Aperio ImageScope program (red fields – marked expression; orange – moderately marked expression; yellow – weak expression; blue stain – no expression). ×20

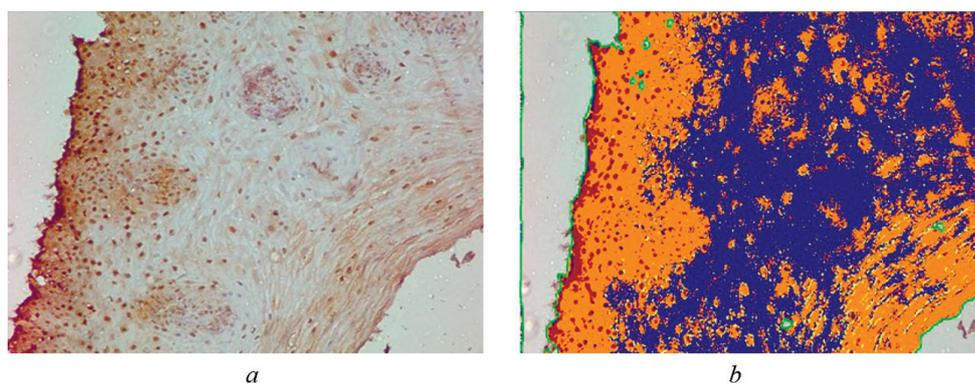


Рис. 2. Выраженная экспрессия рецепторов MTNR1B эпителиоцитами дистального отдела пищевода пациента с ГЭРБ в сочетании с СОАГС: *a* – окраска с использованием антител к MTNR_{1B} в разведении 1:100; *b* – результат работы алгоритма «positive pixel count» программы Aperio ImageScope (красные поля – выраженная экспрессия, оранжевые – умеренно выраженная, желтые – слабовыраженная, синяя окраска – отсутствие экспрессии). ×20

Fig. 2. Marked receptor MTNR1B expression by the epithelial distal esophagus cells of a patient with gastroesophageal reflux disease combined with obstructive sleep apnea/hypopnea syndrome. *a* – staining using antibodies to MTNR_{1B} in 1:100 dilution; *b* – result of the “positive pixel count” algorithm of the Aperio ImageScope program (red fields – marked expression, orange – moderately marked expression, yellow – weak expression, blue stain – no expression). ×20

При проведении корреляционного анализа выявлена прямая статистически значимая связь интенсивности экспрессии рецепторов мелатонина со степенью тяжести СОАГС ($r = 0,50$; $p = 0,0016$) и некоторыми показателями респираторного мониторинга (табл. 4).

Таблица 4. Связь интенсивности экспрессии MTNR1B и показателей респираторного мониторинга

Table 4. Relationship between the MTNR1B expression intensity and the respiratory monitoring rates

Коррелируемые показатели	r	p
АНИ & экспрессия MTNR1B	0,53	0,0014
AI & экспрессия MTNR1B	0,45	0,031
oANI & экспрессия MTNR1B	0,40	0,037

Примечание. АНИ – количество эпизодов апноэ/гипопноэ за 1 ч исследования; AI – количество эпизодов апноэ за 1 ч исследования; oANI – количество обструктивных апноэ/гипопноэ за 1 ч исследования.

Ранее опубликованные результаты нашего исследования показали значимое повышение уровня 6-COMT у пациентов с ГЭРБ-СОАГС по сравнению с аналогичным показателем у пациентов с ГЭРБ без сопутствующего СОАГС [15]. С целью изучения связи между интенсивностью экспрессии MTNR1B и уровнем мелатонина у пациентов с СОАГС проведен корреляционный анализ. Выявлена статистически значимая связь экспрессии MTNR1B с уровнем 6-COMT в моче (табл. 5).

Таблица 5. Связь уровня мелатонина с интенсивностью экспрессии рецепторов MTNR1B у пациентов с СОАГС

Table 5. Relationship between the melatonin level and the receptor MTNR1B expression intensity in OSAHS patients

Коррелируемые показатели	r	p
6-COMT в суточной моче & экспрессия MTNR1B	0,60	0,0066
6-COMT в дневной моче & экспрессия MTNR1B	0,56	0,0098

Обсуждение. Полученные нами данные показали, что при сочетании ГЭРБ и СОАГС отмечается повышение уровня мелатонина и интенсивности экспрессии его рецепторов в слизистой оболочке дистального отдела пищевода по сравнению с таковыми у пациентов с ГЭРБ без сопутствующего СОАГС. Повышение суточного и дневного уровней мелатонина у пациентов с ГЭРБ, протекающей на фоне СОАГС, сопряжено с увеличением экспрессии MTNR1B в пищеводе. Учитывая тот факт, что действие мелатонина реализуется через связывание со специфическими рецепторами, достаточно высокий уровень мелатонина у пациентов с ГЭРБ, ассоциированной с СОАГС, и высокий уровень экспрессии его рецепторов в слизистой оболочке пищевода должны обеспечивать защиту слизистой от повреждающего действия рефлюктата. Несмотря на это, при эндоскопическом исследовании у пациентов с ГЭРБ-СОАГС обнаруживаются признаки рефлюкс-эзофагита. Основываясь на полученных данных, логичным представляется следующее заключение: при ГЭРБ в сочетании с апноэ во сне происходит снижение чувствительности рецепторов к мелатонину на фоне хронической гипоксии, характерной для СОАГС. «Потеря» или снижение активности рецепторов к мелатонину может привести к гиперэкспрессии MTNR1B, что в свою очередь стимулирует продукцию мелатонина. Это подтверждается выявленной нами связью интенсивности экспрессии MTNR1B со степенью тяжести апноэ во сне, а точнее – с количеством эпизодов апноэ обструктивного характера. Выявленные отличия в экспрессии рецепторов мелатонина между пациентами с ГЭРБ-СОАГС и лицами с СОАГС без сопутствующего ГЭРБ позволяют предположить, что снижение чувствительности рецепторов при сочетании этих двух заболеваний усугубляется гипоксией слизистой оболочки, вызванной ее ишемией, характерной для ГЭРБ [16].

В ряде исследований установлено, что высокая экспрессия рецепторов мелатонина MTNR1B связана с худшим прогнозом и метастазированием у пациентов с аденокарциномой желудка [17].

Таким образом, выявленные нами особенности экспрессии MTNR1B у пациентов с ГЭРБ в сочетании с СОАГС могут быть ассоциированы с более высоким риском развития пищевода Барретта и аденокарциномы пищевода у данной категории пациентов, что, конечно же, требует дальнейшего изучения.

Выводы

1. Интенсивность экспрессии MTNR1B в слизистой оболочке пищевода пациентов с ГЭРБ, ассоциированной с СОАГС, значимо выше, чем у пациентов с ГЭРБ без сопутствующего СОАГС ($p = 0,00001$) и у лиц с СОАГС ($p = 0,0098$).

2. Интенсивность экспрессии MTNR1B у пациентов с СОАГС положительно коррелирует со степенью тяжести апноэ во сне ($r = 0,50$; $p = 0,0016$) и количеством эпизодов апноэ обструктивного характера ($r = 0,40$; $p = 0,037$).

3. У пациентов с СОАГС повышение суточного уровня мелатонина и дневной его продукции сопряжено с увеличением интенсивности экспрессии MTNR1B эпителиоцитами слизистой оболочки дистального отдела пищевода ($r = 0,60$; $p = 0,0066$ и $r = 0,56$; $p = 0,0098$ соответственно).

4. Высокая интенсивность экспрессии рецепторов мелатонина в слизистой оболочке пищевода при ГЭРБ, ассоциированной с СОАГС, может явиться главной детерминантой более тяжелого, осложненного течения ГЭРБ у данной категории пациентов.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список использованных источников

1. Estimation of the global prevalence and burden of obstructive sleep apnoea: a literature-based analysis / A. V. Benjafield [et al.] // *Lancet Respir. Med.* – 2019. – Vol. 7, N 8. – P. 687–698. [https://doi.org/10.1016/S2213-2600\(19\)30198-5](https://doi.org/10.1016/S2213-2600(19)30198-5)
2. Gastroesophageal reflux disease is associated with high risk of obstructive sleep apnea syndrome / Y. Chen [et al.] // *Chinese J. Inter. Med.* – 2018. – Vol. 57, N 11. – P. 824–829. <https://doi.org/10.3760/cma.j.issn.0578-1426.2018.11.006>
3. Карпович, О. А. Диагностическое значение мелатонина в выявлении синдрома обструктивного апноэ/гипноэ сна у пациентов с гастроэзофагеальной рефлюксной болезнью / О. А. Карпович // *Мед. новости.* – 2019. – № 12. – С. 49–53.
4. Effect of CPAP therapy on symptoms of nocturnal gastroesophageal reflux among patients with obstructive sleep apnea / S. Tamanna [et al.] // *J. Clin. Sleep Med.* – 2016. – Vol. 12, N 9. – P. 1257–1261. <https://doi.org/10.5664/jcsm.6126>
5. Independent association of obstructive sleep apnea with Barrett's esophagus / Y. B. Hadi [et al.] // *J. Gastroenterol. Hepatol.* – 2019. – Vol. 35, N 3. – P. 408–411. <https://doi.org/10.1111/jgh.14779>
6. Bubenik, G. Thirty four years since the discovery of gastrointestinal melatonin / G. Bubenik // *J. Physiol. Pharmacol.* – 2008. – Vol. 59, suppl. 2. – P. 33–51.
7. Sommansson, A. Melatonin decreases duodenal epithelial paracellular permeability via a nicotinic receptor-dependent pathway in rats *in vivo* / A. Sommansson, O. Nylander, M. Sjöblom // *J. Pineal Res.* – 2013. – Vol. 54, N 3. – P. 282–291. <https://doi.org/10.1111/jpi.12013>
8. Melatonin inhibits il-1 β -induced monolayer permeability of human umbilical vein endothelial cells via rac activation / X. Yuan [et al.] // *J. Pineal Res.* – 2011. – Vol. 51, N 2. – P. 220–225. <https://doi.org/10.1111/j.1600-079X.2011.00882.x>
9. Мелатонин: перспективы применения в клинике / под ред. С. И. Рапопорта. – М. : ИМА-ПРЕСС, 2012. – 175 с.
10. Amaral, F. A brief review about melatonin, a pineal hormone / F. Amaral, J. Cipolla-Neto // *Arch. Endocrinol. Metab.* – 2018. – Vol. 62, N 4. – P. 472–479. <http://dx.doi.org/10.20945/2359-3997000000066>
11. Nocturnal melatonin plasma levels in patients with OSAS: the effect of CPAP / C. Hernandez [et al.] // *Eur. Respir. J.* – 2007. – Vol. 30, N 3. – P. 496–500. <https://doi.org/10.1183/09031936.00051906>
12. Diurnal and nocturnal serum melatonin concentrations after treatment with continuous positive airway pressure in patients with obstructive sleep apnea / M. Barnas [et al.] // *Polish Arch. Int. Med.* – 2017. – Vol. 127, N 9. – P. 589–596. <https://doi.org/10.20452/pamw.4062>
13. Mechanisms of esophageal protection, gastroprotection and ulcer healing by melatonin. implications for the therapeutic use of melatonin in gastroesophageal reflux disease (GERD) and peptic ulcer disease / I. Brzozowska [et al.] // *Curr. Pharm. Design.* – 2014. – Vol. 20, N 30. – P. 4807–4815. <https://doi.org/10.2174/1381612819666131119110258>
14. The montreal definition and classification of gastroesophageal reflux disease: a global evidence-based consensus / M. D. Nimish Vakil [et al.] // *Am. J. Gastroenterol.* – 2006. – Vol. 101, N 8. – P. 1900–1920. <https://doi.org/10.1111/j.1572-0241.2006.00630.x>
15. Карпович, О. А. Особенности суточной секреции мелатонина у пациентов с гастроэзофагеальной рефлюксной болезнью, ассоциированной с синдромом обструктивного апноэ/гипноэ сна / О. А. Карпович, В. И. Шишко, В. Р. Шулика // *Казан. мед. журн.* – 2019. – Т. 100, № 5. – С. 762–768.
16. Щербенков, И. М. Особенности нарушения микроциркуляции при гастроэзофагеальной рефлюксной болезни : дис. ... канд. мед. наук : 14.00.05 / И. М. Щербенков. – М., 2006. – 136 л.
17. Expression of MT2 receptor in patients with gastric adenocarcinoma and its relationship with clinicopathological features / N. N. Nasrabadi [et al.] // *J. Gastrointest. Cancer.* – 2014. – Vol. 45, N 1. – P. 54–60. <https://doi.org/10.1007/s12029-013-9552-0>

References

1. A. V. Benjafield, N. T. Ayas, P. R. Eastwood, R. Heinzer, Ip M. S. M., Morrell M. J. [et al.]. Estimation of the global prevalence and burden of obstructive sleep apnoea: a literature-based analysis. *Lancet Respiratory Medicine*, 2019, vol. 7, no. 8, pp. 687–698. [https://doi.org/10.1016/S2213-2600\(19\)30198-5](https://doi.org/10.1016/S2213-2600(19)30198-5)
2. Chen Y., Xiong L., Zeng J., Wei Y. G. Gastroesophageal reflux disease is associated with high risk of obstructive sleep apnea syndrome. *Chinese Journal of Internal Medicine*, 2018, vol. 57, no. 11, pp. 824–829. <https://doi.org/10.3760/cma.j.issn.0578-1426.2018.11.006>
3. Karpovich O. A. The diagnostic role of melatonin in detection of obstructive sleep apnea/hypopnea syndrome in patients with gastroesophageal reflux disease. *Meditsinskie novosti* [Medical news], 2019, no. 12, pp. 49–53 (in Russian).
4. Tamanna S., Campbell D., Warren R., Ullah M. I. Effect of CPAP therapy on symptoms of nocturnal gastroesophageal reflux among patients with obstructive sleep apnea. *Journal of Clinical Sleep Medicine*, 2016, vol. 12, no. 9, pp. 1257–1261. <https://doi.org/10.5664/jcsm.6126>
5. Hadi Y. B., Khan A. A., Naqvi S. F. Z., Kupec J. T. Independent association of obstructive sleep apnea with Barrett's esophagus. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*, 2019, vol. 35, no. 3, pp. 408–411. <https://doi.org/10.1111/jgh.14779>
6. Bubenik G. Thirty four years since the discovery of gastrointestinal melatonin. *Journal of Physiology and Pharmacology*, 2008, vol. 59, suppl. 2, pp. 33–51.
7. Sommanson A., Nylander O., Sjöblom V. Melatonin decreases duodenal epithelial paracellular permeability via a nicotinic receptor-dependent pathway in rats *in vivo*. *Journal of Pineal Research*, 2013, vol. 54, no. 3, pp. 282–291. <https://doi.org/10.1111/jpi.12013>
8. Yuan X., Li B., Li H., Xiu R. Melatonin inhibits il-1 β -induced monolayer permeability of human umbilical vein endothelial cells via rac activation. *Journal of Pineal Research*, 2011, vol. 51, no. 2, pp. 220–225. <https://doi.org/10.1111/j.1600-079X.2011.00882.x>
9. Rapoport S. I. (ed.). *Melatonin: prospects for use in the clinic*. Moscow, IMA-PRESS Publ., 2012. 175 p. (in Russian).
10. Amaral F. J., Cipolla-Neto J. A brief review about melatonin, a pineal hormone. *Archives of Endocrinology Metabolism*, 2018, vol. 62, no. 4, pp. 472–479. <http://dx.doi.org/10.20945/2359-3997000000066>
11. Hernandez C., Abreu J., Abreu P., Castro A., Jimenez A. Nocturnal melatonin plasma levels in patients with OSAS: the effect of CPAP. *European Respiratory Journal*, 2007, vol. 30, no. 3, pp. 496–500. <https://doi.org/10.1183/09031936.00051906>
12. Barnas M., Maskey-Warzechowska M., Bielicki P., Kumor M., Chazan R. Diurnal and nocturnal serum melatonin concentrations after treatment with continuous positive airway pressure in patients with obstructive sleep apnea. *Polish Archives of Internal Medicine*, 2017, vol. 127, no. 9, pp. 589–596. <https://doi.org/10.20452/pamw.4062>
13. Brzozowska I., Strzalka M., Drozdowicz D., Konturek S. J., Brzozowski T. Mechanisms of esophageal protection, gastroprotection and ulcer healing by melatonin. implications for the therapeutic use of melatonin in gastroesophageal reflux disease (GERD) and peptic ulcer disease. *Current Pharmaceutical Design*, 2014, vol. 20, no. 30, pp. 4807–4815. <https://doi.org/10.2174/1381612819666131119110258>
14. Nimish Vakil M. D., van Zanten S. V., Kahrilas P., Dent J., R. Jones. The montreal definition and classification of gastroesophageal reflux disease: a global evidence-based consensus. *American Journal of Gastroenterology*, 2006, vol. 101, no. 8, pp. 1900–1920. <https://doi.org/10.1111/j.1572-0241.2006.00630.x>
15. Karpovich O. A., Shishko V. I., Shulika V. R. The particularities of melatonin daily production by patients with gastroesophageal reflux disease associated with obstructive apnea/hypopnea sleep syndrome. *Kazanskii meditsinskii zhurnal* [Kazan medical journal], 2019, vol. 100, no. 5, pp. 762–768 (in Russian).
16. Shcherbenkov I. M. *Features of microcirculatory disorders in gastroesophageal reflux disease*. Ph. D. Thesis. Moscow, 2006. 136 p. (in Russian).
17. Nasrabadi N. N., Ataee R., Abediankenari S., Shokrzadeh M., Najafi M., Hoseini S. V., Haghi H., Jan A. Expression of MT2 receptor in patients with gastric adenocarcinoma and its relationship with clinicopathological features. *Journal of Gastrointestinal Cancer*, 2014, vol. 45, no. 1, pp. 54–60. <https://doi.org/10.1007/s12029-013-9552-0>

Информация об авторах

Карпович Олеся Анатольевна – ассистент. Гродненский государственный университет (ул. Горького, 80, 230009, г. Гродно, Республика Беларусь). E-mail: olesjakarpovich@rambler.ru

Шышко Виталий Иосифович – канд. мед. наук, доцент, проректор. Гродненский государственный университет (ул. Горького, 80, 230009, г. Гродно, Республика Беларусь). E-mail: vshyshko@mail.ru

Information about the authors

Alesia A. Karpovich – Assistant. Grodno State Medical University (80, Gorky Str., 230009, Grodno, Republic of Belarus). E-mail: olesjakarpovich@rambler.ru

Vitaliy I. Shyshko – Ph. D. (Med.), Associate Professor, Vice-rector. Grodno State Medical University (80, Gorky Str., 230009, Grodno, Republic of Belarus). E-mail: vshyshko@mail.ru

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

АГЛЯДЫ
REVIEWS

УДК [616.728.3-018.38-001.33:616.72-007.281]-073
<https://doi.org/10.29235/1814-6023-2020-17-3-372-380>

Поступила в редакцию 23.03.2020
Received 23.03.2020

**А. А. Коструб¹, Ю. В. Поляченко¹, В. В. Котюк¹, М. А. Герасименко²,
В. Б. Мазевич¹, И. Н. Никифорова³, Р. И. Блонский¹, Д. А. Смирнов¹**

¹*Институт травматологии и ортопедии НАМН Украины, Киев, Украина*
²*Республиканский научно-практический центр травматологии и ортопедии,
Минск, Республика Беларусь*
³*«М24» центры МРТ и КТ диагностики, Киев, Украина*

**ВКЛАД ПОВРЕЖДЕНИЙ АНТЕРОЛАТЕРАЛЬНОЙ СВЯЗКИ
В НЕСТАБИЛЬНОСТЬ КОЛЕННОГО СУСТАВА
И СОВРЕМЕННЫЕ МЕТОДЫ ИХ ДИАГНОСТИКИ**

Аннотация. Одной из причин резидуальной ротационной нестабильности у пациентов с разрывами передней крестообразной связки после идеально проведенной пластики является нелеченное повреждение антеролатеральной связки (АЛС) коленного сустава. Последние десятилетия в литературе широко обсуждаются вопросы анатомических особенностей АЛС, вклада ее повреждений в ротационную нестабильность коленного сустава, а также способы диагностики и лечения последней. Однако взгляды ученых на принципиальные вопросы, касающиеся анатомии и структурно-функциональных особенностей АЛС, а следовательно, на способы и целесообразность восстановления иногда диаметрально противоположны. Это приводит к неопределенности диагностических критериев и затрудняет выбор оптимальных способов лечения. Диагностика повреждений АЛС с помощью магниторезонансной томографии на сегодняшний день находится на грани своих возможностей.

Нами установлены причины разногласий между исследователями в вопросах анатомии АЛС и оптимальных способов диагностики и лечения ее повреждений, а также предложены пути решения этих вопросов.

Ключевые слова: антеролатеральная связка, нестабильность коленного сустава, МРТ

Для цитирования: Вклад повреждений антеролатеральной связки в нестабильность коленного сустава и современные методы их диагностики / А. А. Коструб [и др.] // Вест. Нац. акад. наук Беларуси. Сер. мед. наук. – 2020. – Т. 17, № 3. – С. 372–380. <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2020-17-3-372-380>

**Oleksandr O. Kostrub¹, Iurii V. Poliachenko¹, Viktor V. Kotiuk¹, Mikhail A. Gerasimenko²,
Vadym B. Mazevych¹, Iryna M. Nikiforova³, Roman I. Blonskyi¹, Dmitry A. Smirnov¹**

¹*Institute of Traumatology and Orthopedics of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine, Kyiv, Ukraine*
²*Republican Scientific-Practical Centre of Traumatology and Orthopedics, Minsk, Republic of Belarus*
³*“M24” MRI and CT Diagnostic Centers, Kyiv, Ukraine*

**CONTRIBUTION OF ANTEROLATERAL LIGAMENT INJURIES TO THE KNEE
JOINT INSTABILITY AND MODERN METHODS OF THEIR DIAGNOSTICS**

Abstract. Untreated damage to the anterolateral ligament of the knee is one of the residual rotational instability causes in patients with the ruptures of the anterior cruciate ligament after its perfect surgical reconstruction. The contribution of anterolateral ligament damage to rotational instability of the knee, its anatomical features, diagnostics and treatment have been widely discussed in the literature in recent decades. However, the insights in the fundamental issues of its anatomy and functional anatomy, and therefore the reconstruction methods and expediency are diametrically positive. Differences in the anatomy data lead to the uncertainty in diagnostic criteria and optimal treatment options. Anterolateral ligament in its nature is beyond the current-day diagnostic capabilities of magnetic resonance imaging.

We have identified the reasons for disagreement among the researchers in the anatomy of an anterolateral ligament, the best ways to diagnose and treat its damage. We have suggested the ways to address these issues in this article.

Keywords: anterolateral ligament, knee instability, MRI

For citation: Kostrub O. O., Poliachenko Iu. V., Kotiuk V. V., Gerasimenko M. A., Mazevych V. B., Nikiforova I. M., Blonskyi R. I., Smirnov D. A. Contribution of anterolateral ligament injuries to the knee joint instability and modern methods of their diagnostics. *Vesti Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seriya meditsinskikh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2020, vol. 17, no. 3, pp. 372–380 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2020-17-3-372-380>

Введение. Повреждения передней крестообразной связки (ПКС) сопровождаются развитием нестабильности коленного сустава, имеющей разную степень выраженности. Это зависит от многих факторов – степени и давности повреждения ПКС, наличия сопутствующих повреждений менисков или других структур коленного сустава, развития мышц бедра и голени, пола пациента, выраженности дегенеративных изменений в суставе и т. д. В связи со значительным расширением за последние десятилетия представлений об анатомии и структурно-функциональных особенностях ПКС разработаны настолько прецизионные технологии ее восстановления, что, казалось бы, вопрос нестабильности после пластики ПКС должен быть решен. Тем не менее, даже идеальное восстановление ПКС и сопутствующих повреждений менисков и других структур у пациентов с хорошим развитием мышц бедра и голени в ряде случаев не позволяет полностью восстановить стабильность коленного сустава, в частности ротационную, что в свою очередь приводит к прекращению спортивной карьеры многих профессиональных спортсменов и невозможности занятий спортом для многих любителей [1]. Одна из причин – повреждение антеролатеральной связки (АЛС) коленного сустава.

АЛС была описана довольно давно (Paul Segond, 1879) [2]. Определение ее роли в ротационной стабильности также не вызвало затруднений. Современное название эта связка получила в 2012 г. благодаря J. P. Vincent с соавт. [3], хотя попытки лечения ее повреждений в виде восстановления анатомии этой связки, а также внесуставной пластики антеролатерального угла (или антеролатерального связочного комплекса) коленного сустава с помощью укрепления или транспозиции смежных структур (капсулы сустава, илиотибиального тракта и т. д.) предпринимались и раньше [4–6]. Таким образом, вопросы диагностики и лечения повреждений АЛС остаются нерешенными и сегодня.

Цель исследования – определение вклада повреждений антеролатеральной связки в нестабильность коленного сустава, а также оценка возможностей современных диагностических методов в выявлении ее повреждений.

Материалы и методы исследования. Исследование основывалось на критическом анализе литературы в отношении анатомии, функциональной анатомии и методов/способов визуализации АЛС за последние 10 лет и более.

Результаты и их обсуждение. На сегодняшний день известно, что АЛС находится на латеральной поверхности коленного сустава кпереди от фибулярной коллатеральной связки. Но мнения исследователей о точках ее начала (особенно о точке начала в области латерального мыщелка бедра) и крепления, направлении волокон и т. д. расходятся.

Авторы последних исследований предлагают считать анатомию АЛС двухслойной [7]. Согласно их представлениям, поверхностный слой АЛС начинается немного дорзальнее и проксимальнее по отношению к центру латерального надмыщелка, проходя поверхностно относительно собственно надмыщелка и начала фибулярной коллатеральной связки. Направляясь в сторону большеберцовой кости, поверхностный слой АЛС прикрепляется к ней между бугорком Герди и головкой малоберцовой кости. Передний и задний края поверхностного слоя АЛС в месте прикрепления расположены от бугорка Герди кзади в среднем на 10,96 и 16,82 мм соответственно. Средняя длина поверхностного слоя АЛС составляет 53–53,3 мм. При сгибании коленного сустава поверхностный слой визуально незначительно расслабляется (задняя часть волокон сокращается примерно на 3 мм), а при разгибании натягивается. Поверхностный слой не имеет связи с латеральным мениском.

Глубокий же слой АЛС в большинстве случаев начинается от самого центра латерального надмыщелка бедра, хотя возможны и незначительные отклонения. Прикрепляется глубокий слой кзади от поверхностного, также кзади от бугорка Герди, но уже на расстоянии 16,4 и 20,8 мм (передний и задний края соответственно). Длина передних и задних волокон глубокого слоя

АЛС составляет в среднем 33,5 и 37,7 мм соответственно. Передние волокна глубокого слоя АЛС удлиняются примерно на 3 мм при сгибании на 90°. Задние волокна остаются той же длины. Визуально глубокий слой очень незначительно натягивается при сгибании коленного сустава. Таким образом, объективное изменение длины волокон слоев АЛС при сгибании/разгибании не всегда коррелирует с визуальным ощущением ее натяжения или расслабления. Глубокий слой АЛС соединяется с латеральным мениском на границе его тела и переднего рога.

Изложенную выше концепцию анатомии АЛС относительно недавно предложили С. Р. Helito с соавт. [7]. Таким образом, исследователям удалось объяснить несогласованность результатов предыдущих исследований других авторов, которые выделяли либо только поверхностный, либо только глубокий слой АЛС (реже). Авторы попытались достаточно убедительно объяснить и другие различия во взглядах исследователей на анатомию АЛС. Поэтому анатомическое исследование АЛС С. Р. Helito с соавт. [7] сегодня выглядит наиболее подробным и наиболее обоснованным. Мы предлагаем придерживаться концепции двухслойного строения АЛС, если эта концепция не будет опровергнута более качественными исследованиями. Что это нам дает? С одной стороны, это потенциально улучшит понимание функции АЛС и возвращает вопрос показаний и выбора способа пластики АЛС к самому началу, поскольку представление о ее анатомии кардинально изменились. С другой стороны, это обуславливает изменение подходов не только к поиску АЛС на МРТ-изображениях и при ультразвуковой диагностике, но и к интерпретации полученных данных. При этом снова поднимаются вопросы: при каком угле сгибания натягивается АЛС и при каком угле сгибания необходимо проводить ее фиксацию. На сегодняшний день эти вопросы находят разные решения [8–10]. С. Р. Helito с соавт. [7] предлагают учитывать роль АЛС как при разгибании, так и при сгибании коленного сустава, что не может не отражаться на способах ее реконструкции. Но для контроля именно за pivot-shift тестом авторы предлагают восстанавливать именно поверхностный слой АЛС [7].

Повреждение АЛС приводит к усилению внутренней ротации. Так, экспериментально установлено, что при повреждении АЛС вместе с ПКС внутренняя ротация голени при различных углах сгибания увеличивается приблизительно на 20 % по сравнению с таковой в здоровом коленном суставе, а при сгибании под углом 90° – на 13,4 % по сравнению с внутренней ротацией коленного сустава с поврежденной ПКС, но без повреждения АЛС. Еще большее повреждение АЛС усиливает внутреннюю ротацию в коленном суставе при одновременном разрыве/отрыве илиотибиального тракта – на 39 % при сгибании под углом 20° и на 63 % при сгибании под углом 90°. А при выполнении pivot-shift теста под углом 30° повреждение АЛС в комплексе с разрывом ПКС увеличивает так называемую «комбинированную» внутреннюю ротацию – на 43 и 30,8 % соответственно по сравнению с таковой в здоровом коленном суставе и в суставе с поврежденной ПКС [11].

Расширение диагностических возможностей МРТ и УЗИ потенциально должно было улучшить диагностику разрывов АЛС, однако этого не произошло. Причин может быть несколько. Во-первых, нужно хорошо понимать анатомию этой связки и учитывать ее роль. Во-вторых, поскольку АЛС достаточно тонкая и находится между двумя связками, которые имеют ту же направленность, важно уметь найти ее и вывести при исследовании. В-третьих, нужны, вероятно, специальные протоколы исследования, которые могли бы улучшить диагностику повреждений АЛС, ведь существующие стандартные протоколы обследования коленного сустава редко дают достаточно информации о ее состоянии. Тем не менее, в ряде случаев даже использование стандартных протоколов исследования коленного сустава позволяет хорошо визуализировать АЛС, особенно если они выполнены на современных высокопольных томографах (рис. 1). Скопление синовиальной жидкости в зоне расположения АЛС при синовите облегчает визуализацию (рис. 2).

Стандартные протоколы МРТ-исследования даже на МРТ-томографе 3 Т позволяют визуализировать АЛС (хотя бы частично) в 64 % интактных коленных суставов и в 72 % коленных суставов с повреждением ПКС. Визуализация АЛС на всем протяжении (правда, без учета последних анатомических исследований ее двухслойного строения) удается уже у значительно меньшего числа пациентов – в 23 % интактных коленных суставов и в 21 % коленных суставов после повреждения ПКС. Причем, как правило, хуже визуализируется бедренный слой, лучше – боль-

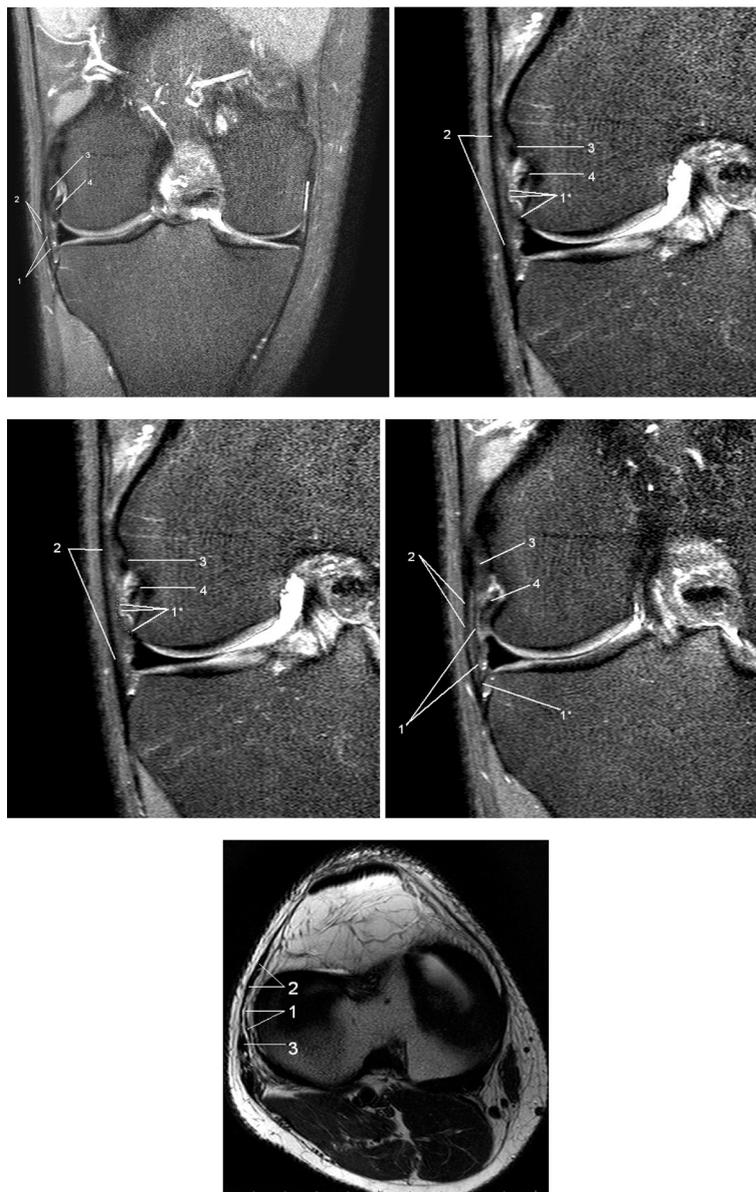


Рис. 1. МРТ 3 Т колінного сугава з неповреженою антеролатеральною зв'язкою: 1 – антеролатеральна зв'язка, 1* – глибока порція антеролатеральної зв'язки, 2 – илиотибиальний тракт, 3 – фібулярна коллатеральна зв'язка, 4 – сухожилля підколінної м'язи

Fig. 1. MRI of 3 T knee joint with undamaged anterolateral ligament: 1 – anterolateral ligament, 1* – deep part of anterolateral ligament, 2 – iliotibial tract, 3 – fibular collateral ligament, 4 – popliteus tendon

шеберцовий [12]. Это обуславливает поиск путей оптимизации МРТ-исследования с целью улучшения визуализации бедренной части АЛС. С. Р. Helito с соавт. [13] на МРТ-томографе 3 Т визуализировали АЛС частично в 81,8 % коленных суставов, а на всем протяжении – в 33,3 %. Другие исследователи приводят еще худшие показатели визуализации АЛС по МРТ-томографу 3 Т – 40 % частично и 11 % на всем протяжении, но также без учета последних анатомических данных [14]. Интересным и полезным для практического поиска АЛС по МРТ является среднее расстояние от плато большеберцовой кости до прикрепления тибальной ее части – 5,6 мм [14]. Имеющиеся определенные расхождения в приведенных различными учеными примерах МРТ-изображений в отношении того, что считать АЛС, обусловлены различными взглядами на ее анатомию. В частности, J. Jr. Porrino с соавт. [15] считают, что АЛС визуализируется у всех пациентов, однако у значительной части она не выглядит отдельной четкой структурой и плохо дифференцируется от окружающих тканей – илиотибиального тракта, латеральной коллатеральной связки или кап-



Рис. 2. МРТ 1,5 Т коленного сустава с неповрежденной антеролатеральной связкой и синовитом в ее области: 1 – антеролатеральная связка, 2 – илиотибиальный тракт, 3 – фибулярная коллатеральная связка

Fig. 2. MRI of 1,5 T knee joint with undamaged anterolateral ligament and synovitis in its area: 1 – anterolateral joint, 2 – iliotibial tract, 3 – fibular collateral joint

дения – полный или частичный разрыв, отек и т. п.). Такая положительная тенденция в улучшении визуализации АЛС в последние годы может быть связана как с совершенствованием понимания ее анатомии, так и с улучшением собственно МРТ-томографов, программного обеспечения и протоколов исследования. В конце концов, по мнению большинства ученых, в той или иной степени визуализировать АЛС по МРТ можно у определенного процента пациентов, но диагностировать ее повреждения удастся очень редко [11]. Понимая важность АЛС и зная досконально ее анатомию, представляется важным попытаться диагностировать ее состояние хотя бы у тех пациентов, у которых это возможно. Несколько улучшить визуализацию АЛС может исследование на МРТ-томографе 3 Т с использованием 3D-CISS режима. А использование косых сагиттальных срезов позволяет даже визуализировать угол между АЛС и фибулярной коллатеральной связкой ($18,34 \pm 1,88^\circ$) [18].

Еще хуже обстоят дела с показаниями к восстановлению АЛС, способами ее восстановления и особенностями реабилитации. Существуют различные взгляды в отношении целесообразности и пользы/риска комбинации пластики ПКС с восстановлением АЛС. Но приведенные авторами небольшого количества исследований аргументы против ее целесообразности [19–21], а иногда, как они утверждают, даже вредности ее проведения [22], перевешивают доводы авторов многочисленных исследований, указывающих на пользу от такой дополнительной стабилизации [23–26].

Такое расхождение во взглядах по вопросу добавления пластики АЛС (при ее повреждении) к пластике ПКС может быть связано с различными факторами, в том числе с разными представлениями об анатомии и функциональной анатомии [2, 7, 27–32], а также с применением различных способов пластики как ПКС, так и АЛС, для которых разработаны способы и анатомического восстановления, и неанатомического антеролатерального тенodesа [33–35]. В то же время, учитывая последние данные о двухслойной анатомической структуре АЛС с различными местами начала и крепления отдельных ее пучков, анатомичность некоторых более старых способов пластики АЛС также должна быть пересмотрена. Е. Inderhaug с соавт. [25] сравнили несколько способов пластики АЛС и неанатомического тенodesа антеролатерального угла коленного сустава. Удивительно, но, согласно их данным, оптимальными оказались неанатомичные тенodesы по Macintosh и по Lemaire (оба с глубоким относительно фибулярной малоберцовой связки проведением пучка из илиотибиального тракта), поскольку анатомичная пластика АЛС не обеспечивала достаточной внутрнеротационной стабильности, а неанатомичный тенodes по модифициро-

сулы сустава. V. Kizilgöz с соавт. [16] считают, что АЛС визуализируется на всем протяжении у 82 % пациентов, но приведенные ими примеры вызывают сомнения в диагностической ценности визуализации такого качества. Примеры визуализации АЛС на МРТ-томографе 1,5 Т (Siemens Maestro Sonata, gradient 40 mT, software Syngo A35) в большинстве интактных коленных суставов, а также нарушений ее структуры в 88,2 % коленных суставов с повреждением ПКС приведены в совершенно свежем исследовании 2019 г. А. Feretti с соавт. [17]. Другим возможным объяснением таких высоких процентов выявления «патологии» со стороны АЛС в данном исследовании было выполнение у пациента МРТ-исследования на обоих суставах (травмированном и здоровом контрлатеральном) и возможность сравнить симметричные участки, а также подбор пациентов только с острой травмой коленного сустава (допускается возможность сращения АЛС в более отдаленном периоде, что может влиять на результаты МРТ-исследования при диагностике устаревших случаев) [17]. Впрочем, «патология» не всегда предполагает наличие разрыва (этот вопрос остается открытым, поскольку имеют значение только степень и характер повреж-

ванной тэхніке Lemaire с поверхностным относительно фибулярной малоберцовой связки проведением пучка из илиотбиального тракта чрезмерно ограничивал внутреннюю ротацию. Результаты, полученные Е. Inderhaug с соавт., логично объясняют также расхождение мнений между учеными относительно эффективности хирургического восстановления АЛС.

Таким образом, предположение о значимой роли АЛС в ограничении чрезмерной ротации голени как в интактном коленном суставе, так и при повреждениях ПКС, а также о положительном эффекте ротационной стабильности в ее восстановлении поддерживается большинством ученых. Более того, некоторые исследователи даже утверждают, что АЛС обеспечивает переднезаднюю стабильность при повреждении ПКС (дополнительное повреждение АЛС сопровождается увеличением передней трансляции голени в среднем на 2,1 мм, $p < 0,001$) [36].

Заключение. Достигнутый на сегодняшний день уровень анатомических исследований антеролатеральной связки позволяет объяснить расхождение результатов предыдущих анатомических и МРТ-исследований, однако вопрос об оптимальных способах диагностики и лечения ее повреждений остается открытым и требует дальнейших исследований. Последние анатомические и биомеханические исследования, а также усовершенствование диагностической аппаратуры открывают новые перспективы в диагностике повреждений антеролатеральной связки коленного сустава.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список использованных источников

1. Anterior cruciate ligament injury: return to play, function and long-term considerations / F. Sepúlveda [et al.] // *Curr. Sports Med. Rep.* – 2017. – Vol. 16, N 3. – P. 172–178. <https://doi.org/10.1249/JSR.0000000000000356>
2. Anatomy of the anterolateral ligament of the knee / S. Claes [et al.] // *J. Anat.* – 2013. – Vol. 223, N 4. – P. 321–328. <https://doi.org/10.1111/joa.12087>
3. The anterolateral ligament of the human knee: an anatomic and histologic study / J. P. Vincent [et al.] // *Knee Surg. Sports Traumatol. Arthrosc.* – 2012. – Vol. 20, N 1. – P. 147–152. <https://doi.org/10.1007/s00167-011-1580-3>
4. Analysis of the Müller anterolateral femorotibial ligament reconstruction using a computerized knee model / M. Gibson [et al.] // *Am. J. Sports Med.* – 1986. – Vol. 14, N 5. – P. 371–375. <https://doi.org/10.1177/036354658601400504>
5. Norwood, L. A. Treatment of acute anterolateral rotatory instability / L. A. Norwood // *Orthop. Clin. North Am.* – 1985. – Vol. 16, N 1. – P. 127–134.
6. Durkan, J. A. Extraarticular reconstruction of the anterior cruciate ligament insufficient knee. A long-term analysis of the Ellison procedure / J. A. Durkan, G. F. Wynne, J. F. Haggerty // *Am. J. Sports Med.* – 1989. – Vol. 17, N 1. – P. 112–117. <https://doi.org/10.1177/036354658901700119>
7. Why do authors differ with regard to the femoral and meniscal anatomic parameters of the knee anterolateral ligament?: dissection by layers and a description of its superficial and deep layers / C. P. Helito [et al.] // *Orthop. J. Sports Med.* – 2016. – Vol. 4, N 12. <https://doi.org/10.1177/2325967116675604>
8. Outcome of a combined anterior cruciate ligament and anterolateral ligament reconstruction technique with a minimum 2-year follow-up / B. Sonnery-Cottet [et al.] // *Am. J. Sports Med.* – 2015. – Vol. 43, N 7. – P. 1598–1605. <https://doi.org/10.1177/0363546515571571>
9. The biomechanical function of the anterolateral ligament of the knee / E. M. Parsons [et al.] // *Am. J. Sports Med.* – 2015. – Vol. 43. – P. 669–674.
10. The anterolateral ligament of the knee joint: a review of the anatomy, biomechanics, and anterolateral ligament surgery / J. H. Ahn [et al.] // *Knee Surg. Relat. Res.* – 2019. – Vol. 31, N 1. <https://doi.org/10.1186/s43019-019-0012-4>
11. The involvement of the anterolateral ligament in rotational control of the knee / B. Sonnery-Cottet [et al.] // *Am. J. Sports Med.* – 2016. – Vol. 44, N 5. – P. 1209–1214. <https://doi.org/10.1177/0363546515625282>
12. MRI is not reliable in diagnosing of concomitant anterolateral ligament and anterior cruciate ligament injuries of the knee / B. M. Devitt [et al.] // *Knee Surg. Sports Traumatol. Arthrosc.* – 2017. – Vol. 25, N 4. – P. 1345–1351. <https://doi.org/10.1007/s00167-017-4538-2>
13. Evaluation of the anterolateral ligament of the knee by means of magnetic resonance examination / C. P. Helito [et al.] // *Rev. Bras. Ortop.* – 2015. – Vol. 50, N 2. – P. 214–219. <https://doi.org/10.1016/j.rboe.2015.03.009>
14. MRI features of the anterolateral ligament of the knee / A. K. Taneja [et al.] // *Skelet. Radiol.* – 2015. – Vol. 44, N 3. – P. 403–410. <https://doi.org/10.1007/s00256-014-2052-x>
15. The anterolateral ligament of the knee: MRI appearance, association with the Segond fracture, and historical perspective / J. Jr. Porrino [et al.] // *Am. J. Roentgenol.* – 2015. – Vol. 204, N 2. – P. 367–373. <https://doi.org/10.2214/AJR.14.12693>
16. Assessment of the anterolateral ligament of the knee by 1.5 T magnetic resonance imaging / V. Kızılgöz [et al.] // *J. Int. Med. Res.* – 2018. – Vol. 46, N 4. – P. 1486–1495. <https://doi.org/10.1177/0300060517740032>
17. High prevalence of anterolateral ligament abnormalities on MRI in knees with acute anterior cruciate ligament injuries: a case-control series from the SANTI Study Group / A. Ferretti [et al.] // *Orthop. J. Sports Med.* – 2019. – Vol. 7, N 6. <https://doi.org/10.1177/2325967119852916>

18. Feasibility of three-dimensional constructive interference in steady state sequences for evaluating the anterolateral ligament / Y. Zhu [et al.] // *Clin. Radiol.* – 2019. – Vol. 74, N 12. – P. 978.e9–978.e14. <https://doi.org/10.1016/j.crad.2019.08.014>
19. Reconstructing the anterolateral ligament does not decrease rotational knee laxity in ACL-reconstructed knees / K. Stentz-Olesen [et al.] // *Knee Surg. Sports Traumatol. Arthrosc.* – 2017. – Vol. 25, N 4. – P. 1125–1131.
20. Is an anterolateral ligament reconstruction required in ACL-reconstructed knees with associated injury to the anterolateral structures? A robotic analysis of rotational knee stability / F. R. Noyes [et al.] // *Am. J. Sports Med.* – 2017. – Vol. 45, N 5. – P. 1018–1027.
21. Function and strain of the anterolateral ligament part I: biomechanical analysis / B. H. Drews [et al.] // *Knee Surg. Sports Traumatol. Arthrosc.* – 2017. – Vol. 25, N 4. – P. 1132–1139.
22. Anatomic anterolateral ligament reconstruction of the knee leads to overconstraint at any fixation angle / J. M. Schon [et al.] // *Am. J. Sports Med.* – 2016. – Vol. 44, N 10. – P. 2546–2556.
23. Kinematics of ACL and anterolateral ligament. Part II: anterolateral and anterior cruciate ligament reconstruction / T. Bonanzinga [et al.] // *Knee Surg. Sports Traumatol. Arthrosc.* – 2017. – Vol. 25, N 4. – P. 1062–1067. <https://doi.org/10.1007/s00167-017-4496-8>
24. Combined reconstruction of the anterior cruciate ligament associated with anterolateral tenodesis effectively controls the acceleration of the tibia during the pivot shift / A. Hardy [et al.] // *Knee Surg. Sports Traumatol. Arthrosc.* – 2017. – Vol. 25, N 4. – P. 1117–1124. <https://doi.org/10.1007/s00167-017-4515-9>
25. Biomechanical comparison of anterolateral procedures combined with anterior cruciate ligament reconstruction / E. Inderhaug [et al.] // *Am. J. Sports Med.* – 2017. – Vol. 45, N 2. – P. 347–354.
26. An *in vitro* robotic assessment of the anterolateral ligament, part 2: anterolateral ligament reconstruction combined with anterior cruciate ligament reconstruction / M. Nitri [et al.] // *Am. J. Sports Med.* – 2016. – Vol. 44, N 3. – P. 593–601. <https://doi.org/10.1177/0363546515620183>
27. Anatomic dissection of the anterolateral ligament (ALL) in paired fresh-frozen cadaveric knee joints / P. P. Roessler [et al.] // *Arch. Orthop. Trauma Surg.* – 2017. – Vol. 137, N 2. – P. 249–255. <https://doi.org/10.1007/s00402-016-2617-3>
28. Femoral origin of the anterolateral ligament: an anatomic analysis / M. Daggett [et al.] // *Arthroscopy.* – 2016. – Vol. 32, N 5. – P. 835–841. <https://doi.org/10.1016/j.arthro.2015.10.006>
29. The anterolateral ligament of the knee: a dissection study / A. Runer [et al.] // *Knee.* – 2016. – Vol. 23, N 1. – P. 8–12. <https://doi.org/10.1016/j.knee.2015.09.014>
30. The anterolateral ligament: an anatomic, radiographic, and biomechanical analysis / M. I. Kennedy [et al.] // *Am. J. Sports Med.* – 2015. – Vol. 43, N 7. – P. 1606–1615. <https://doi.org/10.1177/0363546515578253>
31. Length changes of the anterolateral ligament during passive knee motion: a human cadaveric study / M. Zens [et al.] // *Am. J. Sports Med.* – 2015. – Vol. 43, N 10. – P. 2545–2552. <https://doi.org/10.1177/0363546515594373>
32. The anterolateral ligament: anatomy, length changes and association with the Segond fracture / A. L. Dodds [et al.] // *Bone Joint J.* – 2014. – Vol. 96-B, N 3. – P. 325–331. <https://doi.org/10.1302/0301-620x.96b3.33033>
33. Current concepts of the anterolateral ligament of the knee: anatomy, biomechanics, and reconstruction / M. J. Kraeutler [et al.] // *Am. J. Sports Med.* – 2018. – Vol. 46, N 5. – P. 1235–1242. <https://doi.org/10.1177/0363546517701920>
34. Patel, R. M. Anterolateral ligament of the knee: anatomy, function, imaging, and treatment / R. M. Patel, R. H. Brophy // *Am. J. Sports Med.* – 2018. – Vol. 46, N 1. – P. 217–223. <https://doi.org/10.1177/0363546517695802>
35. The scientific rationale for lateral tenodesis augmentation of intra-articular ACL reconstruction using a modified “Lemaire” procedure / A. Williams [et al.] // *Knee Surg. Sports Traumatol. Arthrosc.* – 2017. – Vol. 25, N 4. – P. 1339–1344. <https://doi.org/10.1007/s00167-017-4537-3>
36. The role of the anterolateral ligament in ACL insufficient and reconstructed knees on rotatory stability: a biomechanical study on human cadavers / M. Tavlo [et al.] // *Scand. J. Med. Sci. Sports.* – 2016. – Vol. 26, N 8. – P. 960–966. <https://doi.org/10.1111/sms.12524>

References

1. Sepúlveda F., Sánchez L., Amy E., Micheo W. Anterior cruciate ligament injury: return to play, function and long-term considerations. *Current Sports Medicine Reports*, 2017, vol. 16, no. 3, pp. 172–178. <https://doi.org/10.1249/JSR.0000000000000356>
2. Claes S., Vereecke E., Maes M., Victor J., Verdonk P., Bellemans J. Anatomy of the anterolateral ligament of the knee. *Journal of Anatomy*, 2013, vol. 223, no. 4, pp. 321–328. <https://doi.org/10.1111/joa.12087>
3. Vincent J. P., Magnussen R. A., Gezmez F., Uguen A., Jacobi M., Weppe F. [et al.]. The anterolateral ligament of the human knee: an anatomic and histologic study. *Knee Surgery, Sports Traumatology, Arthroscopy*, 2012, vol. 20, no. 1, pp. 147–152. <https://doi.org/10.1007/s00167-011-1580-3>
4. Gibson M., Mikosz R., Reider B., Andriacchi T. Analysis of the Müller anterolateral femorotibial ligament reconstruction using a computerized knee model. *The American Journal of Sports Medicine*, 1986, vol. 14, no. 5, pp. 371–375. <https://doi.org/10.1177/036354658601400504>
5. Norwood L. A. Treatment of acute anterolateral rotatory instability. *Orthopedic Clinics of North America*, 1985, vol. 16, no. 1, pp. 127–134.
6. Durkan J. A., Wynne G. F., Haggerty J. F. Extraarticular reconstruction of the anterior cruciate ligament insufficient knee. A long-term analysis of the Ellison procedure. *American Journal of Sports Medicine*, 1989, vol. 17, no. 1, pp. 112–117. <https://doi.org/10.1177/036354658901700119>
7. Helito C. P., do Amaral C. Jr., Nakamichi Y. D., Gobbi R. G., Bonadio M. B., Natalino R. J. [et al.]. Why do authors differ with regard to the femoral and meniscal anatomic parameters of the knee anterolateral ligament?: dissection by layers

and a description of its superficial and deep layers. *Orthopaedic Journal of Sports Medicine*, 2016, vol. 4, no. 12. <https://doi.org/10.1177/2325967116675604>

8. Sonnery-Cottet B., Thauinat M., Freychet B., Pupim B. H., Murphy C. G., Claes S. Outcome of a combined anterior cruciate ligament and anterolateral ligament reconstruction technique with a minimum 2-year follow-up. *American Journal of Sports Medicine*, 2015, vol. 43, no. 7, pp. 1598–1605. <https://doi.org/10.1177/0363546515571571>

9. Parsons E. M., Gee A. O., Spiekerman C., Cavanagh P. R. The biomechanical function of the anterolateral ligament of the knee. *American Journal of Sports Medicine*, 2015, vol. 43, pp. 669–674.

10. Ahn J. H., Patel N. A., Lin C. C., Lee T. Q. The anterolateral ligament of the knee joint: a review of the anatomy, biomechanics, and anterolateral ligament surgery. *Knee Surgery and Related Research*, 2019, vol. 31, no. 1. <https://doi.org/10.1186/s43019-019-0012-4>

11. Sonnery-Cottet B., Lutz C., Daggett M., Dalmay F., Freychet B., Niglis L., Imbert P. The Involvement of the anterolateral ligament in rotational control of the knee. *American Journal of Sports Medicine*, 2016, vol. 44, no. 5, pp. 1209–1214. <https://doi.org/10.1177/0363546515625282>.

12. Devitt B. M., O'Sullivan R., Feller J. A., Lash N., Porter T. J., Webster K. E., Whitehead T. S. MRI is not reliable in diagnosing concomitant anterolateral ligament and anterior cruciate ligament injuries of the knee. *Knee Surgery, Sports Traumatology, Arthroscopy*, 2017, vol. 25, no. 4, pp. 1345–1351. <https://doi.org/10.1007/s00167-017-4538-2>

13. Helito C. P., Demange M. K., Helito P. V., Costa H. P., Bonadio M. B., Pecora J. R., Rodrigues M. B., Camanho G. L. Evaluation of the anterolateral ligament of the knee by means of magnetic resonance examination. *Revista Brasileira de Ortopedia*, 2015, vol. 50, no. 2, pp. 214–219. <https://doi.org/10.1016/j.rboe.2015.03.009>

14. Taneja A. K., Miranda F. C., Braga C. A., Gill C. M., Hartmann L. G., Santos D. C., Rosemberg L. A. MRI features of the anterolateral ligament of the knee. *Skeletal Radiology*, 2015, vol. 44, no. 3, pp. 403–410. <https://doi.org/10.1007/s00256-014-2052-x>

15. Porrino J. Jr., Maloney E., Richardson M., Mulcahy H., Ha A., Chew F. S. The anterolateral ligament of the knee: MRI appearance, association with the Segond fracture, and historical perspective. *American Journal of Roentgenology*, vol. 2015, no. 204, no. 2, pp. 367–373. <https://doi.org/10.2214/AJR.14.12693>

16. Kizilgöz V., Sivrioğlu A. K., Aydin H., Çetin T., Ulusoy G. R. Assessment of the anterolateral ligament of the knee by 1.5 T magnetic resonance imaging. *Journal of International Medical Research*, 2018, vol. 46, no. 4, pp. 1486–1495. <https://doi.org/10.1177/0300060517740032>

17. Ferretti A., Monaco E., Redler A., Argento G., de Carli A., Saithna A., Helito P. V. P., Helito C. P. High prevalence of anterolateral ligament abnormalities on mri in knees with acute anterior cruciate ligament injuries: a case-control series from the SANTI Study Group. *Orthopaedic Journal of Sports Medicine*, 2019, vol. 7, no. 6. <https://doi.org/10.1177/2325967119852916>

18. Zhu Y., Qiu X., Yu T., Zhang C., Zhao X., Duan F., Hao D. Feasibility of three-dimensional constructive interference in steady state sequences for evaluating the anterolateral ligament. *Clinical Radiology*, 2019, vol. 74, no. 12, pp. 978.e9–978.e14. <https://doi.org/10.1016/j.crad.2019.08.014>

19. Stentz-Olesen K., Nielsen E. T., de Raedt S., Jorgensen P. B., Sorensen O. G., Kaptein B. et al. Reconstructing the anterolateral ligament does not decrease rotational knee laxity in ACL-reconstructed knees. *Knee Surgery, Sports Traumatology, Arthroscopy*, 2017, vol. 25, no. 4, pp. 1125–1131.

20. Noyes F. R., Huser L. E., Jurgensmeier D., Walsh J., Levy M. S. Is an anterolateral ligament reconstruction required in ACL-reconstructed knees with associated injury to the anterolateral structures? A robotic analysis of rotational knee stability. *American Journal of Sports Medicine*, 2017, vol. 45 (5), pp. 1018–1027.

21. Drews B. H., Kessler O., Franz W., Durselen L., Freutel M. Function and strain of the anterolateral ligament part I: biomechanical analysis. *Knee Surgery, Sports Traumatology, Arthroscopy*, 2017, vol. 25 (4), pp. 1132–1139.

22. Schon J. M., Moatshe G., Brady A. W., Serra Cruz R., Chahla J., Dornan G. J., Turnbull T. L., Engebretsen L., LaPrade R. F. Anatomic anterolateral ligament reconstruction of the knee leads to overconstraint at any fixation angle. *American Journal of Sports Medicine*, 2016, vol. 44, no. 10, pp. 2546–2556.

23. Bonanzinga T., Signorelli C., Grassi A., Lopomo N., Jain M., Mosca M., Iacono F., Marcacci M., Zaffagnini S. Kinematics of ACL and anterolateral ligament. Part II: anterolateral and anterior cruciate ligament reconstruction. *Knee Surgery, Sports Traumatology, Arthroscopy*, 2017, vol. 25, no. 4, pp. 1062–1067. <https://doi.org/10.1007/s00167-017-4496-8>

24. Hardy A., Casabianca L., Hardy E., Grimaud O., Meyer A. Combined reconstruction of the anterior cruciate ligament associated with anterolateral tenodesis effectively controls the acceleration of the tibia during the pivot shift. *Knee Surgery, Sports Traumatology, Arthroscopy*, 2017, vol. 25, no. 4, pp. 1117–1124. <https://doi.org/10.1007/s00167-017-4515-9>

25. Inderhaug E., Stephen J. M., Williams A., Amis A. A. Biomechanical comparison of anterolateral procedures combined with anterior cruciate ligament reconstruction. *American Journal of Sports Medicine*, 2017, vol. 45, no. 2, pp. 347–354.

26. Nitri M., Rasmussen M. T., Williams B. T., Moulton S. G., Cruz R. S., Dornan G. J., Goldsmith M. T., LaPrade R. F. An *in vitro* robotic assessment of the anterolateral ligament, part 2: anterolateral ligament reconstruction combined with anterior cruciate ligament reconstruction. *American Journal of Sports Medicine*, 2016, vol. 44, no. 3, pp. 593–601. <https://doi.org/10.1177/0363546515620183>

27. Roessler P. P., Schuttler K. F., Stein T., Gravius S., Heyse T. J., Prescher A., Wirtz D. C., Efe T. Anatomic dissection of the anterolateral ligament (ALL) in paired fresh-frozen cadaveric knee joints. *Archives of Orthopaedic and Trauma Surgery*, 2017, vol. 137, no. 2, pp. 249–255. <https://doi.org/10.1007/s00402-016-2617-3>

28. Daggett M., Ockuly A. C., Cullen M., Busch K., Lutz C., Imbert P., Sonnery-Cottet B. Femoral origin of the anterolateral ligament: an anatomic analysis. *Arthroscopy*, 2016, vol. 32, no. 5, pp. 835–841. <https://doi.org/10.1016/j.arthro.2015.10.006>

29. Runer A., Birkmaier S., Pamminer M., Reider S., Herbst E., Kunzel K. H., Brenner E., Fink Ch. The anterolateral ligament of the knee: a dissection study. *Knee*, 2016, vol. 23, no. 1, pp. 8–12. <https://doi.org/10.1016/j.knee.2015.09.014>

30. Kennedy M. I., Claes S., Fuso F. A., Williams B. T., Goldsmith M. T., Turnbull T. L., Wijdicks C. A., LaPrade R. F. The anterolateral ligament: an anatomic, radiographic, and biomechanical analysis. *American Journal of Sports Medicine*, 2015, vol. 43, no. 7, pp. 1606–1615. <https://doi.org/10.1177/0363546515578253>
31. Zens M., Niemeier P., Ruhhammer J., Bernstein A., Woias P., Mayr H. O., Südkamp N. P., Feucht M. J. Length changes of the anterolateral ligament during passive knee motion: a human cadaveric study. *American Journal of Sports Medicine*, 2015, vol. 43, no. 10, pp. 2545–2552. <https://doi.org/10.1177/0363546515594373>
32. Dodds A. L., Halewood C., Gupte C. M., Williams A., Amis A. A. The anterolateral ligament: anatomy, length changes and association with the Segond fracture. *Bone & Joint Journal*, 2014, vol. 96-B, no. 3, pp. 325–331. <https://doi.org/10.1302/0301-620x.96b3.33033>
33. Kraeutler M. J., Welton K. L., Chahla J., LaPrade R. F., McCarty E. C. Current concepts of the anterolateral ligament of the knee: anatomy, biomechanics, and reconstruction. *American Journal of Sports Medicine*, 2018, vol. 46, no. 5, pp. 1235–1242. <https://doi.org/10.1177/0363546517701920>
34. Patel R. M., Brophy R. H. Anterolateral ligament of the knee: anatomy, function, imaging, and treatment. *American Journal of Sports Medicine*, 2018, vol. 46, no. 1, pp. 217–223. <https://doi.org/10.1177/0363546517695802>
35. Williams A., Ball S., Stephen J., White N., Jones M., Amis A. The scientific rationale for lateral tenodesis augmentation of intra-articular ACL reconstruction using a modified “Lemaire” procedure. *Knee Surgery, Sports Traumatology, Arthroscopy*, 2017, vol. 25, no. 4, pp. 1339–1344. <https://doi.org/10.1007/s00167-017-4537-3>
36. Tavlo M., Eljaja S., Jensen J. T., Siersma V. D., Krogsgaard M. R. The role of the anterolateral ligament in ACL insufficient and reconstructed knees on rotatory stability: a biomechanical study on human cadavers. *Scandinavian Journal of Medicine & Science in Sports*, 2016, vol. 26, no. 8, pp. 960–966. <https://doi.org/10.1111/sms.12524>

Информация об авторах

Коструб Александр Алексеевич – д-р мед. наук, профессор, заведующий отделом. Институт травматологии и ортопедии НАМН Украины (ул. Бульварно-Кудрявская, 27, 01601, г. Киев, Украина). <https://orcid.org/0000-0001-7925-9362>.

Поляченко Юрий Владимирович – д-р мед. наук, профессор, и. о. директора. Институт травматологии и ортопедии НАМН Украины (ул. Бульварно-Кудрявская, 27, 01601, г. Киев, Украина). <https://orcid.org/0000-0003-1814-4240>

Котюк Виктор Владимирович – канд. мед. наук, ст. науч. сотрудник. Институт травматологии и ортопедии НАМН Украины (ул. Бульварно-Кудрявская, 27, 01601, г. Киев, Украина). <https://orcid.org/0000-0001-8837-8603>.

Герасименко Михаил Александрович – д-р мед. наук, профессор, директор. Республиканский научно-практический центр травматологии и ортопедии (ул. Кижеватова, 60/4, 220024, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: gerasimenko@tut.by

Мазевич Вадим Борисович – врач ортопед-травматолог. Институт травматологии и ортопедии НАМН Украины (ул. Бульварно-Кудрявская, 27, 01601, г. Киев, Украина). <https://orcid.org/0000-0002-3617-5043>.

Никифорова Ирина Николаевна – врач-рентгенолог. «М24» центры МРТ и КТ диагностики (ул. Авиаконструктора Антонова, 13, г. Киев, Украина).

Блонский Роман Иванович – д-р мед. наук, вед. науч. сотрудник. Институт травматологии и ортопедии НАМН Украины (ул. Бульварно-Кудрявская, 27, 01601, г. Киев, Украина). <https://orcid.org/0000-0003-2310-6345>.

Смирнов Дмитрий Александрович – канд. мед. наук, врач ортопед-травматолог. Институт травматологии и ортопедии НАМН Украины (ул. Бульварно-Кудрявская, 27, 01601, г. Киев, Украина). <https://orcid.org/0000-0003-1048-569X>.

Information about the authors

Oleksandr O. Kostруб – D. Sc. (Med.), Professor, Head of the Department. Institute of Traumatology and Orthopedics of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine (27, Bul'varno-Kudryavskaya Str., 01601, Kyiv, Ukraine). <https://orcid.org/0000-0001-7925-9362>.

Iurii V. Poliachenko – D. Sc. (Med.), Professor, Acting Director. Institute of Traumatology and Orthopedics of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine (27, Bul'varno-Kudryavskaya Str., 01601, Kyiv, Ukraine). <https://orcid.org/0000-0003-1814-4240>.

Viktor V. Kotiuk – Ph. D. (Med.), Senior Researcher. Institute of Traumatology and Orthopedics of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine (27, Bul'varno-Kudryavskaya Str., 01601, Kyiv, Ukraine). <https://orcid.org/0000-0001-8837-8603>.

Mikhail A. Gerasimenko – D. Sc. (Med.), Professor, Director. Republican Scientific-Practical Centre of Traumatology and Orthopedics (60/4, Kizhevatov Str., 220024, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: gerasimenko@tut.by

Vadym B. Mazevych – Orthopedic Traumatologist. Institute of Traumatology and Orthopedics of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine (27, Bul'varno-Kudryavskaya Str., 01601, Kyiv, Ukraine). <https://orcid.org/0000-0002-3617-5043>.

Iryna M. Nikiforova – Radiologist. “M24” MRI and CT Diagnostic Centers (13, Aviakonstruktor Antonova Str., Kyiv, Ukraine).

Roman I. Blonskyi – D. Sc. (Med.), Leading Researcher. Institute of Traumatology and Orthopedics of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine (27, Bul'varno-Kudryavskaya Str., 01601, Kyiv, Ukraine). <https://orcid.org/0000-0003-2310-6345>.

Dmitry A. Smirnov – Ph. D. (Med.), Orthopedic Traumatologist. Institute of Traumatology and Orthopedics of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine (27, Bul'varno-Kudryavskaya Str., 01601, Kyiv, Ukraine). <https://orcid.org/0000-0003-1048-569X>.

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

ВУЧОНЫЯ БЕЛАРУСІ
SCIENTISTS OF BELARUS

ФРАНТИШЕК ИВАНОВИЧ ВИСМОНТ

(К 70-летию со дня рождения)

12 июня 2020 г. исполнилось 70 лет талантливому белорусскому ученому, заведующему кафедрой патологической физиологии Белорусского государственного медицинского университета, доктору медицинских наук, профессору, члену-корреспонденту НАН Беларуси Франтишкеву Ивановичу Висмонту.

Известный ученый в области физиологии и патологии, основоположник Белорусской патофизиологической школы дисрегуляторной патологии, Франтишек Иванович Висмонт встречает свое 70-летие на передовых рубежах отечественной медицинской науки и высшего профессионального образования.

Ф. И. Висмонт родился 12 июня 1950 г. в г. Лиде Гродненской области. В 1973 г. с отличием окончил Минский государственный медицинский институт. Свою профессиональную деятельность Франтишек Иванович начал в Лидской центральной районной больнице в качестве врача-хирурга. В 1974–1976 гг. служил в рядах Вооруженных сил СССР. С 1976 г. Ф. И. Висмонт – младший научный сотрудник лаборатории биохимии нейrogормонов ЦНИЛ МГМИ, с 1978 г. – ассистент, а с 1986 г. по 1991 г. – доцент кафедры нормальной физиологии Минского государственного медицинского института. В этот период Франтишек Иванович изучает особенности обмена липопротеидов и механизмы их регуляции при гипертермии. Результаты научных исследований были обобщены в кандидатской диссертации на тему «Центральные адренергические механизмы регуляции содержания холестерина липопротеидов в крови при перегревании и простагландиновой гипертермии», которую он успешно защитил в 1982 г. В последующие годы он продолжает глубокие исследования по проблеме центральных механизмов терморегуляции, экспериментально обосновывает правоту выдвинутой им гипотезы о регуляторной и патогенетической роли системы ограниченного протеолиза и эндогенных ингибиторов протеиназы в регуляции температурного гомеостаза при перегревании и эндотоксиновой лихорадке. Полученные Ф. И. Висмонтом новые данные легли в основу его докторской диссертации на тему «Центральные нейрохимические механизмы терморегуляции при перегревании и пирогеноловой лихорадке», которую он успешно защитил в 1990 г. С 1991 г. Ф. И. Висмонт – доцент кафедры патологической физиологии. В 1996 г. ему было присвоено звание профессора, и в том же году он был избран заведующим кафедрой патологической физиологии МГМИ.

Основные направления научных исследований кафедры патофизиологии под руководством профессора Ф. И. Висмонта – изучение патогенетических механизмов и защитно-приспособительных реакций организма, роли бактериальных эндотоксинов в физиологии и патологии. Франтишек Иванович внес значительный личный вклад в развитие такого нового научного направления в термофизиологии, как регуляторная и патогенетическая роль ограниченного протеолиза в центральных нейромедиаторных и пептидергических механизмах регуляции температуры тела и вегетативных функций организма, а также в разработку концепции патогенетической роли эндотоксинемии в возникновении дисрегуляторной патологии и формировании предболезни, получившей признание в Республике Беларусь и Российской Федерации.



Ф. И. Висмонт – разработчик, научный руководитель и ответственный исполнитель от Республики Беларусь проекта БРФФИ–РФФИ № Б06Р-98 «Исследования основных закономерностей и механизмов периферического действия кортикотропин-релизинг-фактора на висцеральные функции и терморегуляцию» (на 2006–2008 гг.), научный руководитель темы по заданию 2.57 «Изучить противоишемическую и антиаритмическую эффективность дистантного ишемического пре- и посткондиционирования при ишемии-реперфузии миокарда у старых крыс и крыс с гиперхолестеринемией» ГПНИ «Фундаментальные и прикладные науки – медицине» на 2016–2020 гг. В результате выполнения задания получены новые научные результаты, имеющие фундаментальное и научно-практическое значение для развития научных направлений по поиску новых эффективных методов кардиопротекции, защиты миокарда от ишемического и реперфузионного повреждения у пациентов с различными факторами риска сердечно-сосудистых заболеваний. Франтишек Иванович – научный руководитель проводимой на кафедре патологической физиологии БГМУ темы НИР «Изучение роли клеток Купфера и йодсодержащих гормонов в регуляции детоксикационной функции печени и температуры тела при хронической этаноловой интоксикации» (№ государственной регистрации 20160475).

Профессор Ф. И. Висмонт уделяет большое внимание научно-исследовательской работе студентов. Под его руководством студентами БГМУ подготовлен целый ряд научных работ, авторы которых – лауреаты республиканского и международных конкурсов студенческих научных работ. В настоящее время Франтишек Иванович является научным руководителем студенческого научного общества Белорусского государственного медицинского университета.

Будучи талантливым ученым, профессор Ф. И. Висмонт является прекрасным организатором и координатором науки. Под его руководством защищено 11 диссертаций, одна из которых – на соискание ученой степени доктора медицинских наук. Ф. И. Висмонт – член Международной ассоциации патофизиологов, заместитель председателя Общества физиологов Республики Беларусь, эксперт Национального центра профессионально-общественной аккредитации РФ, председатель специализированного Совета Д 03.18.02. по защите диссертаций на соискание ученой степени доктора медицинских наук при БГМУ, член специализированного Совета Д 01.36.01 по защите диссертаций на соискание ученой степени доктора биологических наук при ГНУ «Институт физиологии НАН Беларуси», член Бюро медицинского отделения НАН Беларуси, член премиальной комиссии НАН Беларуси, член Государственного экспертного совета № 9 «Медицинские науки и технологии», заместитель председателя экспертной комиссии по фундаментальным исследованиям Министерства здравоохранения Республики Беларусь, заместитель председателя Научно-технического совета УО «БГМУ» ГПНИ «Фундаментальные и прикладные науки – медицине», научный руководитель СНО УО «БГМУ», член Научно-технического совета УО «БГМУ» по подпрограмме «Внутренние болезни» ГНТП «Новые методы оказания медицинской помощи», член межведомственной комиссии по медико-биологическим проблемам МЗ РБ и НАН Беларуси и других комитетов и комиссий, член редакционных коллегий журналов «Медицинский журнал», «Новости медико-биологических наук», «Весці НАН Беларусі. Серыя медыцынскіх навук», «Неотложная кардиология и кардиоваскулярные риски».

Ф. И. Висмонт – делегат I и II съездов ученых Республики Беларусь. Он участвует в выполнении поручений органов Государственного управления и руководства НАН Беларуси. По поручению директора Департамента по контролю качества образования Министерства образования Республики Беларусь участвовал в работе комиссии по подтверждению государственной аккредитации УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет», УО «Гродненский государственный медицинский университет», УО «Гомельский государственный медицинский университет», Международного экологического института имени А. Д. Сахарова Белорусского государственного университета и иных комиссий по оценке качества преподавания в ВУЗах Беларуси.

Результаты многолетней научной деятельности Франтишека Ивановича Висмонта отражены в 601 печатной работе, в том числе в 2 монографиях и 2 изобретениях. Он неоднократно принимал участие в международных симпозиумах и конференциях, посвященных актуальным вопросам медицины и фармации.

Профессор Ф. И. Висмонт, эрудированный педагог, прекрасный лектор, скромный, отзывчивый и требовательный к себе человек, пользуется заслуженным авторитетом среди студентов и сотрудников университета.

Почти 25 лет Франтишек Иванович возглавляет кафедру патологической физиологии БГМУ. За этот период он разработал и внедрил новые методы обучения с основами информационных образовательных технологий, создал учебно-экспериментальный практикум с использованием учебных видеофильмов и компьютерных программ. С целью гуманизации и оптимизации учебно-педагогического процесса Ф. И. Висмонт заменил острые эксперименты на животных видеопрезентациями с иллюстрацией механизмов нарушения витальных функций организма экспериментальных животных.

Разработка методов обучения на основе создания учебно-экспериментального практикума с широким использованием учебных видеофильмов и новых учебных компьютерных пособий, заменяющих демонстрации опытов на животных, способствовала совершенствованию преподавания, гуманизации и оптимизации учебного процесса на медико-биологических кафедрах медицинских ВУЗов с целью подготовки высококвалифицированных специалистов в соответствии с международными требованиями, морально-этическими принципами формирования личности будущего врача.

Ф. И. Висмонт участвовал (в качестве ответственного лица) в реализации таких проектов, как «Организация Национального комитета по биоэтике и обеспечение биоэтического образования специалистов в Республике Беларусь» (2006–2008) и «Образование и просвещение в области биоэтики Республике Беларусь» (2006–2007) по программе социальных и гуманитарных наук Бюро ЮНЕСКО в Москве. Он разработчик Положения и Устава Национального комитета по биоэтике, утвержденных Минздравом Республики Беларусь.

Как заместитель председателя Национального комитета по биоэтике Республики Беларусь Франтишек Иванович участвовал в разработке политики проведения на национальном уровне общественного контроля над соблюдением основных принципов биомедицинской этики при лечении и биомедицинских исследованиях. Принимал участие в организации форумов по обсуждению правовых и социальных вопросов, связанных с биомедицинскими исследованиями, в разработке учебных пособий и рекомендаций по методическому обеспечению системы непрерывного биомедицинского образования специалистов и просвещения населения.

Профессор Ф. И. Висмонт большое внимание уделяет усовершенствованию учебно-методической работы кафедры, улучшению усвояемости учебного материала студентами. С этой целью коллективом кафедры под руководством профессора Ф. И. Висмонта создано около 100 учебно-методических пособий по различным разделам, изданы избранные лекции по курсу патологической физиологии, 3 учебных пособия с грифом Министерства образования, 3 учебника, в том числе первый национальный учебник «Патологическая физиология» для студентов учреждений высшего образования.

Ф. И. Висмонт – автор и соавтор многих типовых и рабочих программ, образовательных стандартов по дисциплине «Патологическая физиология» для медицинских вузов Республики Беларусь.

За успехи и достижения в научно-исследовательской работе в 2002 г. Ф. И. Висмонт удостоен персональной надбавки Президента РБ деятелям науки, а в 2005 г. за результаты в учебной и учебно-методической работе – персональной надбавки Президента РБ работникам просвещения. Неоднократно награждался грамотами Министерства здравоохранения, Министерства образования, ВАК Республики Беларусь, ГКНТ, награжден дипломом победителя конкурса ТОП-10 результатов деятельности ученых Национальной академии наук Беларуси в области фундаментальных и прикладных исследований за 2019 г. За крупный вклад в разработку фундаментальных проблем патофизиологии Ф. И. Висмонт награжден РАМН медалью им. А. Д. Сперанского. За многолетнюю плодотворную работу, высокий профессионализм, заслуги в научной и педагогической деятельности награжден медалью Ф. Скорины, медалью «80 лет НАН Беларуси», памятным знаком «У гонар 90-годдзя Нацыянальнай Акадэміі навук Беларусі», памятным знаком «У гонар заснавання Нацыянальнай акадэміі навук Беларусі», нагрудным знаком «Отличник здравоохранения».

В стенах родного университета Ф. И. Висмонт работает около 45 лет, из них около 30 лет – на кафедре патологической физиологии. Белорусский государственный медицинский университет – Alma mater Франтишека Ивановича Висмонта.

Личные качества заведующего кафедрой патологической физиологии, профессора, члена-корреспондента НАН Беларуси Франтишека Ивановича Висмонта – целеустремленность, неустанный научный поиск, высокая ответственность в сфере подготовки квалифицированных врачей и научных кадров, преданность своей Alma mater, добросовестный труд на благо отечественного здравоохранения.

Коллектив кафедры патологической физиологии, многочисленные ученики, коллеги сердечно поздравляют Франтишека Ивановича Висмонта с 70-летним юбилеем, выражают свою бесконечную благодарность и огромное уважение Учителю, желают доброго здоровья, долгих лет плодотворной и созидательной деятельности, новых творческих успехов.