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

ВЕСЦІ
НАЦЫЯНАЛЬНАЙ АКАДЭМІІ НАВУК БЕЛАРУСІ

СЕРЫЯ МЕДЫЦЫНСКІХ НАВУК. 2021. Том 18, № 1

ИЗВЕСТИЯ
НАЦИОНАЛЬНОЙ АКАДЕМИИ НАУК БЕЛАРУСИ

СЕРИЯ МЕДИЦИНСКИХ НАУК. 2021. Том 18, № 1

Журнал основан в 2004 г.

Выходит четыре раза в год

Учредитель – Национальная академия наук Беларуси

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

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

Главный редактор

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

Редакционная коллегия

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

С. Л. Кабак – Белорусский государственный медицинский университет, Минск, Республика Беларусь
С. А. Красный – Республиканский научно-практический центр онкологии и медицинской радиологии им. Н. Н. Александрова, Минск, Республика Беларусь
Н. П. Митьковская – Республиканский научно-практический центр «Кардиология», Минск, Республика Беларусь
С. П. Рубникович – Белорусский государственный медицинский университет, Минск, Республика Беларусь
И. Н. Семененя – Институт биохимии биологически активных соединений Национальной академии наук Беларуси, Минск, Республика Беларусь
Р. Р. Сидорович – Республиканский научно-практический центр неврологии и нейрохирургии, Минск, Республика Беларусь
А. В. Строцкий – Белорусский государственный медицинский университет, Минск, Республика Беларусь
А. В. Сукало – Белорусский государственный медицинский университет, Минск, Республика Беларусь
Л. П. Титов – Республиканский научно-практический центр эпидемиологии и микробиологии, Минск, Республика Беларусь
С. И. Третьяк – Белорусский государственный медицинский университет, Минск, Республика Беларусь

Редакционный совет

Эдуардас Алекнавичиус – Национальный институт рака, Вильнюс, Литовская Республика
Ю. В. Вороненко – Национальная медицинская академия последипломного образования имени П. Л. Шупика, Киев, Украина
Марк М. Ван Гулле – Университет Лёвена, Лёвен, Королевство Бельгия
Драган Дьюрич – Институт медицинской физиологии Ричарда Бьюриана Университета Белграда, Белград, Республика Сербия
Т. П. Клюшник – Научный центр психического здоровья, Москва, Российская Федерация
В. А. Кульчицкий – Институт физиологии Национальной академии наук Беларуси, Минск, Республика Беларусь
Марк-Антуан Кусто – Анжерский университет, Анже, Французская Республика
А. И. Мартынов – Медицинский центр Управления делами Президента Российской Федерации, Москва, Российская Федерация
Р. Г. Оганов – Российское кардиологическое общество, Москва, Российская Федерация
Н. Д. Савенкова – Санкт-Петербургская государственная педиатрическая медицинская академия, Санкт-Петербург, Российская Федерация
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 17 272-19-19; e-mail: medvesti@mail.ru.
Сайт: vestimed.belnauka.by.

ИЗВЕСТИЯ НАЦИОНАЛЬНОЙ АКАДЕМИИ НАУК БЕЛАРУСИ.
Серия медицинских наук. 2021. Том 18, № 1
Выходит на русском, белорусском и английском языках

Редактор *В. Г. Колосовская*
Компьютерная верстка *С. Н. Костюк*

Подписано в печать 10.02.2021. Выход в свет 24.02.2021. Формат 60×84 $^{1}/_{8}$. Бумага офсетная.
Печать цифровая. Усл. печ. л. 14,88. Уч.-изд. л. 16,4. Тираж 46 экз. Заказ 23.
Цена номера: индивидуальная подписка – 12,38 руб., ведомственная подписка – 29,38 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, 2021

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

PROCEEDINGS
OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF BELARUS

MEDICAL SERIES, 2021, vol. 18, no. 1

The Journal was founded in 2004

Issued four times a year

Founder is the National Academy of Sciences of Belarus

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

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

E d i t o r - i n - C h i e f

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

E d i t o r i a l B o a r d

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 – Republican Scientific and Practical Center "Cardiology", Minsk, Republic of Belarus
Sergey P. Rubnikovich – Belarusian State Medical University, Minsk, Republic of Belarus
Igor N. Semenenya – Institute of Biochemistry of Biologically Active Compounds of the National Academy of Sciences of Belarus, Grodno, Republic of Belarus
Ryszard R. Sidorovich – Republican Research and Practical Center of Neurology and Neurosurgery, Minsk, Republic of Belarus
Alexandr V. Strotsky – 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

E d i t o r i a l C o u n c i l

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
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 17 272-19-19; e-mail: medvesti@mail.ru.
Website: vestimed.belnauka.by.

PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF BELARUS.
Medical series, 2021, vol. 18, no. 1.

Printed in Russian, Belarusian and English languages

Editor *V. G. Kolosovskaya*
Computer imposition *S. N. Kostsyuk*

It is sent of the press 10.02.2021. Appearance 24.02.2021. Format 60×84 $^{1}/_{8}$. Offset paper. The press digital.
Printed pages 14.88. Publisher's signatures 16.4. Circulation 46 copies. Order 23.
Number price: individual subscription – 12.38 byn., departmental subscription – 29.38 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. Skorina Str., Minsk, 220141, Republic of Belarus.

© RUE "Publishing House "Belaruskaya Navuka",
Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series, 2021

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

ЗМЕСТ

КЛІНІЧНАЯ І ЭКСПЕРЫМЕНТАЛЬНАЯ МЕДЫЦЫНА

Кабак С. Л., Саврасова Н. А., Мельниченко Ю. М., Журавлева Н. В., Мехтиев Р. С. Морфометрическая характеристика верхнечелюстной пазухи взрослых людей по данным конусно-лучевой компьютерной томографии 7

Санковец Д. Н., Гнедько Т. В., Витушко А. Н., Свирская О. Я. Интегрированная программа оптимизации кислородного статуса головного мозга у новорожденных с респираторными расстройствами по данным региональной оксигенации (*на англ.*) 16

Гурьянова И. Е., Жаранкова Ю. С., Полякова Е. А., Пугачева В. В., Скоповец Е. Я., Белевцев М. В., Алейникова О. В. Молекулярно-генетическая диагностика врожденного ангионевротического отека 25

Жерносеченко А. А., Исайкина Я. И., Филипович Т. В., Лях Е. Г. Хондрогенный и остеогенный потенциал мезенхимальных стволовых клеток костного мозга и плаценты 36

Побойнев В. В., Хрусталев В. В., Стожаров А. Н., Хрусталева Т. А. Сайты связывания билирубина сывороточным альбумином человека: возможность влияния на них мутаций, вызванных радиацией 46

Коструб А. А., Котюк В. В., Поляченко Ю. В., Герасименко М. А., Блонский Р. И., Засаднюк И. А. Вариабельность антеролатеральной связки на МРТ – отсутствие стандартизации исследований или варианты анатомии? (*на англ.*) 58

Асташонок А. Н., Полещук Н. Н., Рубаник Л. В., Бобровничий В. И., Петрученя А. В. Патоморфоз мерцательного эпителия респираторного тракта у детей с заболеваниями верхних и нижних дыхательных путей: ультраструктурный и наноскопический анализ 69

Соболевская И. С., Мяделец О. Д., Островская О. Б. Влияние темновой депривации на морфологию ламеллярных телец и других клеточных компонентов кератиноцитов эпидермиса 80

Ниязов Ш. Т., Джурабекова А. Т., Шомуродова Д. С. Комплексный прогноз последствий вторичного энцефалита у детей 89

АГЛЯДЫ

Прилуцкая В. А., Сукало А. В., Деркач Т. А. Адаптация сердечно-сосудистой системы младенцев, рожденных матерями с сахарным диабетом 94

Семак Г. Р. Методы медикаментозной терапии хронических дистрофических заболеваний глазной поверхности 109

Гусакова Е. А., Городецкая И. В. Влияние глюкокортикоидных гормонов на функцию щитовидной железы 117

ВУЧОНЫЯ БЕЛАРУСІ

Александр Васильевич Сукало (К 70-летию со дня рождения) 127

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

CONTENTS

CLINICAL AND EXPERIMENTAL MEDICINE

Kabak S. L., Savrasova N. A., Melnichenko Yu. M., Zhuravleva N. V., Mekhtiev R. S. Morphometric study of the adult maxillary sinus using cone beam computed tomography 7

Sankovets D. N., Gnedko T. V., Vitushka A. M., Svirskaya O. Ja. A comprehensive program of optimization the brain oxygen status in newborns with respiratory disorders based on targeting regional oxygenation 16

Guryanova I. E., Zharankova Yu. S., Polyakova E. A., Pugacheva V. V., Skapavets K. Ya., Belevtsev M. V., Aleinikova O. V. Molecular genetic diagnosis of hereditary angioedema 25

Zhernasechanka H. A., Isaikina Ya. I., Filipovich T. V., Liakh E. G. Osteogenic and chondrogenic differentiation potential of mesenchymal stem cells obtained from the bone marrow and placenta 36

Poboinev V. V., Khrustalev V. V., Stojarov A. N., Khrustaleva T. A. Influence of mutations caused by radiation exposure on the bilirubin binding sites of human serum albumin 46

Kostrub O. O., Kotiuk V. V., Poliachenko Iu. V., Gerasimenko M. A., Blonskyi R. I., Zasadnyuk I. A. Variability of anterolateral ligament on MRI images – lack of survey standardization or anatomical variants? 58

Astashonok A. N., Poleshchuk N. N., Rubanik L. V., Bobrovnichiy V. I., Petruchenya A. V. Ciliated columnar epithelium pathomorphosis in children with upper and lower respiratory infections: ultrastructural and nanoscopic analysis 69

Sobolevskaya I. S., Myadelets O. D., Ostrovskaya O. B. Influence of dark deprivation on the morphology of lamellarian bodies and other cell components of epidermis keratinocytes 80

Niyozov Sh. T., Djurabekova A. T., Shomurodova D. S. Comprehensive prognosis of the consequences of secondary encephalitis in children 89

REVIEWS

Prylutskaya V. A., Sukalo A. V., Derkach T. A. Adaptation of the cardiovascular system of infants born by mothers with diabetes mellitus 94

Semak G. R. Methods of drug therapy for severe dry eye disease 109

Gusakova E. A., Gorodetskaya I. V. Influence of glucocorticoid hormones on the thyroid gland function 117

SCIENTISTS OF BELARUS

Alexander Vasilievich Sukalo (To the 70th Anniversary) 127

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

КЛІНІЧНАЯ І ЭКСПЕРЫМЕНТАЛЬНАЯ МЕДЫЦЫНА

CLINICAL AND EXPERIMENTAL MEDICINE

УДК 616.216.1-073.756.8:611.716.1
https://doi.org/10.29235/1814-6023-2021-18-1-7-15

Поступила в редакцию 04.08.2020
Received 04.08.2020

С. Л. Кабак[1], Н. А. Саврасова[2], Ю. М. Мельниченко[1], Н. В. Журавлева[1], Р. С. Мехтиев[1]

[1]Белорусский государственный медицинский университет, Минск, Республика Беларусь
[2]Медицинский центр «ЛОДЭ», Минск, Республика Беларусь

МОРФОМЕТРИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ВЕРХНЕЧЕЛЮСТНОЙ ПАЗУХИ ВЗРОСЛЫХ ЛЮДЕЙ ПО ДАННЫМ КОНУСНО-ЛУЧЕВОЙ КОМПЬЮТЕРНОЙ ТОМОГРАФИИ

Аннотация. Цель исследования – установить диапазон колебаний линейных размеров и объема верхнечелюстной пазухи взрослых людей с учетом пола и стороны ее расположения по данным конусно-лучевой компьютерной томографии (КЛКТ).

Изучены данные КЛКТ 136 пациентов (263 верхнечелюстные пазухи) учреждений здравоохранения г. Минска со стоматологической и ЛОР-патологией в возрасте старше 20 лет, у которых в анамнезе отсутствовали сведения о хирургических вмешательствах на верхней челюсти и были сохранены верхние боковые зубы (от первого премоляра до второго моляра включительно).

На КЛКТ сканах измеряли высоту, глубину и ширину пазухи. Так, объем верхнечелюстной пазухи (V), рассчитанный по формуле V = высота × глубину × 1/3 ширины, варьировался в пределах от 5,53 до 24,03 см^3. Средние значения ширины, высоты и глубины пазухи составили соответственно 27,13 ± 3,83; 35,83 ± 4,36 и 38,98 ± 3,38 мм.

Несмотря на большую дисперсию объема верхнечелюстной пазухи, нами не выявлено статистически достоверных различий между значениями этого параметра на контралатеральных сторонах как у мужчин, так и у женщин. Установлено, что линейные размеры и объем верхнечелюстной пазухи у женщин статистически достоверно меньше, чем у мужчин.

Ключевые слова: верхнечелюстная пазуха, конусно-лучевая компьютерная томография, объем, линейные размеры, половые различия

Для цитирования: Морфометрические характеристики верхнечелюстной пазухи взрослых людей по данным конусно-лучевой компьютерной томографии / С. Л. Кабак [и др.] // Вес. Нац. акад. навук Беларусі. Сер. мед. навук. – 2021. – Т. 18, № 1. – С. 7–15. https://doi.org/10.29235/1814-6023-2021-18-1-7-15

Sergey L. Kabak[1], Nina A. Savrasova[2], Yuliya M. Melnichenko[1], Natallia V. Zhuravleva[1], Ruslan S. Mekhtiev[1]

[1]Belarusian State Medical University, Minsk, Republic of Belarus
[2]Medical center "LODE", Minsk, Republic of Belarus

MORPHOMETRIC STUDY OF THE ADULT MAXILLARY SINUS USING CONE BEAM COMPUTED TOMOGRAPHY

Abstract. The aim of the study was to determine the range of maxillary sinus volume and linear dimensions in adults, taking into account the gender and the side of the location using cone-beam computed tomography (CBCT) images.

This study used the CBCT images of 136 patients (263 maxillary sinuses), who were presented to Minsk health facilities, with dental and maxillary sinus pathologies, aged over 20 years with no history of upper jaw surgery and with the presence of upper posterior teeth (from the first premolar to the second molar inclusive). The height, depth and width of the sinus were measured manually on CBCT scans. The maxillary sinus volume (V) was calculated by the formula: V = height × depth × 1/3 width.

The volume of the maxillary sinus was varied from 5.53 to 24.03 cm^3. The mean values of the sinus width, height and depth were 27.13 ± 3.83 mm, 35.83 ± 4.36 mm, and 38.98 ± 3.38 mm respectively.

Despite a high variability of the maxillary sinus volume values, we did not find a statistically significant difference between the right and left sides in both males and females. The maxillary sinus linear dimensions and volume in females were statistically significantly less than in males.

Keywords: maxillary sinus, cone beam computed tomography, volume, linear dimension, sex differences

For citation: Kabak S. L., Savrasova N. A., Melnichenko Yu. M., Zhuravleva N. V., Mekhtiev R. S. Morphometric study of the adult maxillary sinus using cone beam computed tomography. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seriya meditsinskikh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2021, vol. 18, no. 1, pp. 7–15 (in Russian). https://doi.org/10.29235/1814-6023-2021-18-1-7-15

Введение. Верхнечелюстная (гайморова) пазуха – самая крупная воздухоносная полость в костях лицевого черепа, которая сообщается с полостью носа. Передняя, глазничная, носовая и подвисочная поверхности тела верхней челюсти формируют соответственно переднюю, верхнюю, медиальную и латеральную стенки пазухи. Нижняя стенка образована альвеолярным и нёбным отростками верхней челюсти и чаще всего простирается от первого премоляра до третьего моляра [1]. Как правило, верхнечелюстная пазуха имеет форму трехгранной пирамиды, основание которой обращено к полости носа, а вершина доходит до скулового отростка верхней челюсти и заканчивается небольшим расширением – скуловым карманом [2, 3].

На 10-й неделе внутриутробного развития на слизистой оболочке среднего носового хода образуется нескольких выпячиваний в окружающую мезенхиму. К 11-й неделе эмбриогенеза они сливаются в одну полость, которая является зачатком верхнечелюстной пазухи [4]. При рождении переднезадний размер верхнечелюстной пазухи составляет <7,0 мм, высота – <4,0, ширина – <2,7 мм [5]. В последующем линейные размеры увеличиваются на 2–3 мм каждый год. Объем пазухи при рождении составляет 6–8 мм^3 и достигает максимальных значений к 15–19 годам [6–8]. Высота пазухи (ее краниокаудальный размер) детерминируется давлением глазного яблока на нижнюю стенку глазницы, тягой мимических мышц и прорезыванием постоянных зубов [1].

Объем и линейные размеры верхнечелюстной пазухи взрослых людей в разных популяциях обычно варьируются в широком диапазоне. Так, по данным литературы, средний объем пазухи колеблется от 10,5 до 18 см^3 [9]. Выявлена отрицательная корреляция между возрастом, шириной и объемом пазухи, свидетельствующая о спадании костных стенок воздухоносной полости. Кроме того, объем пазухи значительно меньше у людей с полной или частичной адентией [10].

Цель настоящего исследования – установить диапазон колебаний линейных размеров и объема верхнечелюстной пазухи взрослых людей с учетом пола и стороны ее расположения по данным конусно-лучевой компьютерной томографии. С практической точки зрения это важно для диагностики врожденного недоразвития верхнечелюстной пазухи или уменьшения ее размеров в результате патологического процесса.

Объекты и методы исследования. Изучены данные конусно-лучевой компьютерной томографии (КЛКТ) 136 пациентов (44 % мужчин и 56 % женщин, средний возраст (M ± SD) – 33,6 ± 10,2 года) со стоматологической и ЛОР-патологией, обратившихся за помощью в учреждения здравоохранения г. Минска за период с 2012 по 2020 г. Критериями включения в исследование были: 1) возраст пациентов старше 20 лет; 2) отсутствие оперативных вмешательств и травм в области верхней челюсти; 3) наличие верхних боковых зубов (от первого премоляра до второго моляра включительно); 4) расположение дна пазухи ниже уровня нижней стенки полости носа. Всего было проанализировано 263 верхнечелюстные пазухи. Пациенты с выраженной асимметрией средней зоны лица были исключены из исследования.

Рентгенологическое исследование было выполнено на аппарате Galileos GAX5 Sirona Dental Systems (Bensheim, Германия) в программе GALILEOS Viewer.

На КЛКТ сканах измеряли следующие параметры пазухи (рис. 1):

высоту (краниокаудальный размер) [a] – максимальное расстояние между верхней и нижней стенками пазухи на фронтальных срезах (сканах);

ширину (поперечный, медиолатеральный размер) [b] – максимальное расстояние между медиальной стенкой и наиболее удаленной точкой скулового кармана на фронтальных срезах;

глубину (переднезадний размер) [c] – максимальное расстояние между передней и задней стенками пазухи на сагиттальных срезах.

Измерение всех линейных параметров пазухи производилось двумя исследователями, которые прошли предварительную тренировку (калибровку) с рентгенологом – специалистом по анализу данных КЛКТ. В базу данных вносили среднее значение по результатам двух измерений.

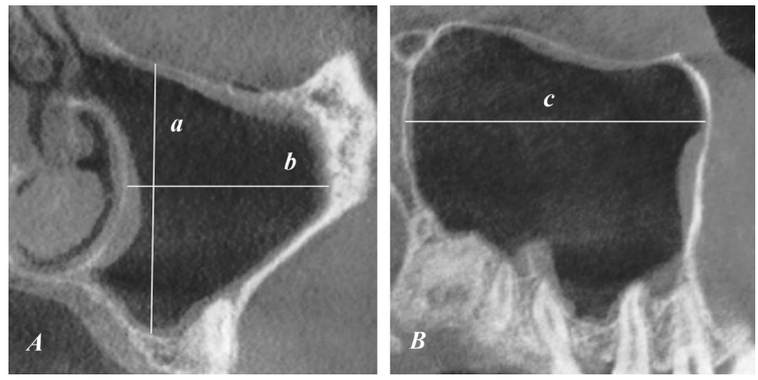


Рис. 1. Линейные размеры левой верхнечелюстной пазухи: *a* – краниокаудальный, *b* – поперечный, *c* – переднезадний (*A* – фронтальный скан, *B* – сагиттальный КЛКТ скан)

Fig. 1. Linear dimensions of the left maxillary sinus: *a* – craniocaudal, *b* – transverse, *c* – anteroposterior dimension (*A* – frontal scan, *B* – sagittal CBCT scan)

Объем пазух рассчитывали по формуле пирамиды [11]*: *V* (объем) = высота (*a*) × глубину (*c*) × 1/3 ширины (*b*).

Расчет индекса верхнечелюстной пазухи (maxillary sinus index, MSI) производили по формуле MSI = глубина/высоту [12].

Для статистической обработки полученных данных использовали пакет программ Statistica 10.0. Различия признавали статистически достоверными при уровне достоверности $p < 0{,}05$.

Результаты и их обсуждение. В проанализированной выборке объем верхнечелюстной пазухи варьировался в пределах от 5,53 до 24,03 см^3. Не установлено статистически значимых различий в объеме правой и левой пазух. Вместе с тем выявлены половые различия в объеме пазухи в целом и в зависимости от стороны ее расположения. Объем правой и левой пазух у мужчин был статистически достоверно больше, чем у женщин (рис. 2, табл. 1).

Выявлены статистически значимые различия между всеми линейными размерами пазухи у мужчин и женщин. Глубина и высота пазухи с двух сторон у мужчин статистически достоверно

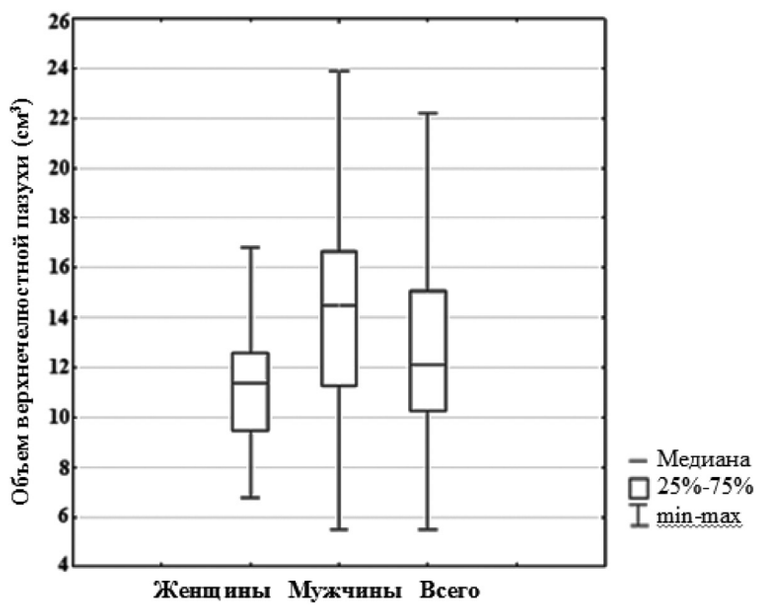


Рис. 2. Объем верхнечелюстной пазухи

Fig. 2. Maxillary sinus volume

* Hamdy и Abdel-Wahed [11] называют медиолатеральный размер высотой, переднезадний размер – шириной, а краниокаудальный размер обозначают как длину. Эти термины они используют в формуле для расчета объема пазухи.

Таблица 1. **Морфометрические параметры верхнечелюстной пазухи**

Table 1. **Morphometric parameters of the maxillary sinus**

Параметр	Мужчины (n = 113)		Женщины (n = 150)		Мужчины + женщины (n = 263)		
	M ± SD	Me (25–75 %), min–max	M ± SD	Me (25–75 %), min–max	M ± SD	CV, %	Me (25–75 %), min–max
Объем, см^3:							
справа	14,58 ± 3,69	14,95 (11,65–16,92), 5,53–23,61	11,79 ± 2,89	11,58 (9,62–13,04), 7,26–24,03*	13,04 ± 3,54	27,15	12,21 (10,40–15,24), 5,53–24,03
слева	14,18 ± 4,21	14,29 (10,75–16,49), 7,00–23,89	11,60 ± 3,05	10,97 (9,39–12,28), 6,79–23,35*	12,67 ± 3,78	29,83	11,91 (9,74–14,91), 6,79–23,89
Всего	14,39 ± 3,92	14,51 (11,24–16,65), 5,53–23,89	11,69 ± 2,96	11,39 (9,46–12,60), 6,79–24,03*	12,85±3,66	28,48	12,09 (10,26–15,06), 5,53–24,03
Ширина, мм:							
справа	28,26 ± 3,99	27,75 (25,27–30,94), 19,10–38,59	26,32 ± 3,08	26,20 (24,53–27,64), 20,35–37,39*	27,19 ± 3,63	13,35	26,77 (24,77–29,49), 19,10–38,59
слева	27,90 ± 4,39	27,71 (24,52–30,86), 20,91–40,62	26,49 ± 3,69	25,72 (24,23–28,07), 19,7–38,05*	27,07 ± 4,04	14,92	26,26 (24,29–29,40), 19,7–40,62
Всего	28,10 ± 4,17	27,73 (25,02–30,86), 19,10–40,62	26,40 ± 3,39	25,01 (24,43–27,92), 19,7–38,05*	27,13 ± 3,83	14,12	26,51 (24,51–29,49), 19,10–40,62
Высота, мм:							
справа	37,95 ± 4,05	37,68 (35,23–40,59), 28,75–48,21	34,75 ± 3,68*	34,80 (31,80–37,40), 28,18–45,37	35,18 ± 4,15	11,80	35,90 (33,39–38,56), 28,18–48,21
слева	37,41 ± 4,47	37,45 (34,28–39,74), 27,76–47,74	34,09 ± 4,10*	33,21(31,22–36,29), 22,46–47,42	35,45 ± 4,55	12,83	34,92(32,17–38,66), 22,46–47,74
Всего	37,70 ± 4,24	37,45 (34,92–40,34), 27,76–48,21	34,42 ± 3,90	34,20 (31,57–37,01), 22,146–47,42	35,83 ± 4,36	12,17	35,65 (32,36–38,66), 22,46–48,21
Глубина, мм:							
справа	40,19 ± 3,50	40,90 (37,27–42,68), 30,20–48,23	38,24 ± 3,04	38,32 (36,55–39,94), 27,90–44,26	39,11 ± 3,39	8,67	38,76(37,07–41,75), 27,9–48,23
слева	39,88 ± 3,83	37,80 (37,07–42,15), 32,43–52,63	38,13 ± 2,83	38,33 (35,36–40,30), 32,31–43,94	38,85 ± 3,37	8,67	39,01(36,12–40,73), 32,31–52,63
Всего	40,05 ± 3,64	40,18 (37,12–42,58), 30,20–52,63	38,18 ± 2,93	38,89 (35,89–40,05), 2790–44,26	38,98 ± 3,38	8,67	38,79 (36,58–41,20), 27,9–52,63

Примечание. * – статистически значимые различия между мужчинами и женщиными (p < 0,001). Здесь и в табл. 2, 3: n – количество верхнечелюстных пазух, SD – стандартное отклонение, CV – коэффициент вариации.

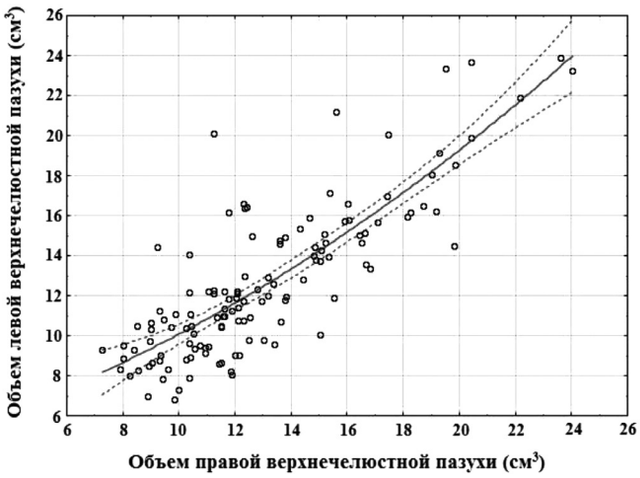


Рис. 3. Корреляция между объемами правой и левой верхнечелюстных пазух (r = 0,83)

Fig. 3. Correlation between the volumes of the right and left maxillary sinus (r = 0.83)

больше, чем у женщин (табл. 1). Ширина правой пазухи у мужчин также больше, чем у женщин. У представителей обоего пола статистически значимые различия между линейными размерами справа и слева не установлены.

Сильная корреляционная связь имеет место между объемами пазух контралатеральных сторон (r = 0,83; p = 0,000; рис. 3).

Среднее значение индекса верхнечелюстной пазухи составило 1,1 с диапазоном колебаний от 0,73 до 1,57. Коэффициент вариации равен 11,98 %, что свидетельствует о средней степени рассеивания данных. Величина индекса статистически достоверно больше у женщин, чем у мужчин (табл. 2). Полученные результаты совпадают с данными T. Khaitan с соавт. [12], которые предлагают использовать выявленное гендерное

Т а б л и ц а 2. **Индекс верхнечелюстной пазухи**

T a b l e 2. **Maxillary sinus index**

Пол	*n*	M ± SD	Me (25–75 %)	min–max	CV, %	Статистическая значимость половых различий
Женщины	150	1,12 ± 0,14	1,11 (1,05–1,19)	0,73–1,57	12,11	$p = 0{,}002$
Мужчины	113	1,07 ± 0,12	1,08 (0,98–1,13)	0,81–1,48	11,29	
Всего	263	1,10 ± 0,13	1,10 (1,02–1,17)	0,73–1,57	11,98	–

различие и для идентификации пола в криминалистической практике. Вместе с тем, по данным N. Velpula с соавт. [13], индекс верхнечелюстной пазухи у мужчин статистически достоверно больше, чем у женщин.

Индекс соотношения высоты верхнечелюстной пазухи и ее ширины составил 1,34 с диапазоном колебаний от 0,59 до 1,99. Коэффициент вариации равен 13,19 %, что свидетельствует о средней степени рассеивания данных. Среднее значение индекса статистически достоверно больше у мужчин, чем у женщин (табл. 3).

Т а б л и ц а 3. **Соотношение высоты и ширины верхнечелюстной пазухи**

T a b l e 3. **Maxillary sinus height-to-width ratio**

Пол	*n*	M ± SD	Me (25–75 %)	min–max	CV, %	Статистическая значимость половых различий
Женщины	150	1,32 ± 0,17	1,31 (1,22–1,42)	0,59–1,99	13,12	$U = 7001{,}00$; $p = 0{,}015$
Мужчины	113	1,36 ± 0,18	1,35(1,26–1,49)	0,89–1,87	12,92	
Всего	263	1,34 ± 0,18	1,32 (1,23–1,44)	0,59–1,99	13,19	–

Согласно данным литературы, средние значения переднезаднего размера верхнечелюстной пазухи варьируются в пределах 28,9–47,6 мм; краниокаудального – 30,0–43,7; поперечного – 9,3–35,3 мм [9, 14]. В эти диапазоны попадают средние значения размеров пазухи, полученные на проанализированной нами выборке. При этом переднезадний размер всегда больше краниокаудального и поперечного размеров. В свою очередь наименьшее значение имел медиолатеральный размер. Y. Ariji с соавт. [14] обнаружили сильную корреляционную связь поперечного и переднезаднего размеров пазухи с ее объемом.

В настоящем исследовании средний объем пазухи был равен 12,85 ± 3,66 мм^3 (варьировался от 5,33 до 24,03 мм^3). Значение этого параметра сопоставимо с литературными данными [9]. Во всех исследованиях обращает на себя внимание большой разброс линейных размеров и объема пазухи у отдельных индивидуумов. Одной из возможных причин большой дисперсии морфометрических результатов является неоднородность качественного состава лиц, размеры пазух которых анализировались разными авторами. В частности, определенное влияние на объем пазухи может оказывать дентальный статус. Установлено, что степень пневматизации пазухи увеличивается в связи с атрофией альвеолярного отростка верхней челюсти, которая развивается после экстракции зубов [15–17]. Вместе с тем Y. Ariji с соавт. [18] в своем исследовании не выявили различий в объеме верхнечелюстной пазухи при наличии или отсутствии верхних премоляров и моляров. В исследовании Y. Uchida с соавт. [19] также не обнаружено статистически значимых различий между объемом верхнечелюстной пазухи и зубным статусом, хотя краниокаудальный и мезиодистальный размеры пазухи на беззубых челюстях были больше, чем при сохранении целостности зубного ряда.

Данные о влиянии возраста на объем пазухи и ее линейные размеры, представленные в литературе, также достаточно противоречивы. Y. Uchida с соавт. [19] не выявили статистически достоверных отличий ее объема и линейных размеров в разных возрастных группах в диапазоне от 40 до 94 лет. Отсутствие корреляции между количественными параметрами пазухи и возрастом отмечают P. Sahlstrand-Johnson с соавт. [20], I. Orhan с соавт. [21], M. Akhlaghi с соавт. [22]. Однако в исследовании Y. Ariji с соавт. [18] было установлено, что объем пазухи увеличивается

до 20-летнего возраста, а затем постепенно уменьшается. S. Karakas и A. Kavaki [23] в возрастной группе 5–55 лет констатировали прогрессивное увеличение объема верхнечелюстной пазухи с возрастом.

В настоящее время считается доказанным, что количественные параметры пазухи имеют расово-этнические особенности. При морфометрическом анализе КТ-сканов черепов представителей европеоидной и негроидной рас C. L. Fernandes [24] выявил, что объем верхнечелюстной пазухи у европеоидов достоверно больше, чем у негроидов. Автор обнаружил также отличия по половому признаку в черепах европеоидов, отметив больший объем у мужчин, в то время как у черепов негроидной расы отличия по половому признаку отсутствовали.

Все линейные размеры верхнечелюстной пазухи в той или иной степени коррелируют с размерами средней зоны лица. Сильная корреляционная связь существует между поперечным размером пазухи и максимальной шириной лица [25], а также, согласно Y. Ariji с соавт. [14], между объемом гайморовой пазухи и линейными размерами средней трети лица.

K. Lovasova с соавт. [26] предлагают выделять три варианта формы верхнечелюстной пазухи, учитывая ее поперечный размер: узкую (до 14 мм), промежуточную (14–20 мм) и широкую (от 20 мм и больше). В исследованной нами выборке у мужчин чаще всего встречалась узкая форма (55,5 %), а у женщин – широкая (57,9 %). Полученные данные частично совпадают с результатами, представленными Е. А. Кармальковой с соавт. [27], измерявшими размеры средней трети лица у молодых людей белорусской популяции. Ими установлено, что большинство девушек (87,67 %) были широколицыми, в то время как большинство юношей (53,57 %) имели среднее лицо.

Результаты нашего исследования демонстрируют выраженные различия размеров верхнечелюстной пазухи в зависимости от пола. Ее объем статистически больше у мужчин, чем у женщин, и составляет 14,39 (от 5,53 до 23,89) и 11,69 (от 6,79 до 24,03) $см^3$ соответственно, что сопоставимо с данными других исследователей [20, 24]. В то же время S. Pirner с соавт. [28], Y. Ariji с соавт. [14] и Y. Uchida с соавт. [19] не выявили половых отличий в объеме пазухи.

В проанализированной нами выборке не обнаружено статистически значимых различий между размерами правой и левой пазух, но установлена сильная корреляция этих параметров между собой. Данные большинства исследований по изучению объема верхнечелюстной пазухи также не демонстрируют наличие различий ее объема на контралатеральных сторонах [18, 20, 29, 30].

Заключение. Несмотря на большую дисперсию объема верхнечелюстной пазухи, нами не выявлено статистически достоверных различий между значениями этого параметра на контралатеральных сторонах как у мужчин, так и у женщин. Соотношения линейных размеров (индексы) показали среднюю степень рассеивания данных. Выявлены половые различия в морфометрических показателях. Полученные данные относительно границ нормы морфометрических параметров верхнечелюстной пазухи могут быть использованы как для диагностики ее недоразвития, так и для определения, за счет изменения положения каких стенок этот патологический процесс происходит.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список использованных источников

1. Clinical anatomy of the maxillary sinus: application to sinus floor augmentation / J. Iwanaga [et al.] // Anat. Cell Biol. – 2019. – Vol. 52, N 1. – P. 17–24. https://doi.org/10.5115/acb.2019.52.1.17

2. Левенец, О. А. Характеристика типов и форм строения верхнечелюстных пазух / О. А. Левенец, А. А. Левенец, В. В. Алямовский // Сиб. мед. обозрение. – 2016. – № 4. – С. 57–63.

3. Гайворонский, И. В. Анатомические корреляции при различных вариантах строения верхнечелюстной пазухи и альвеолярного отростка верхней челюсти / И. В. Гайворонский, М. А. Смирнова, М. Г. Гайворонская // Вестн. Санкт-Петерб. ун-та. Медицина. – 2008. – № 3. – С. 95–99.

4. Nuñez-Castruita, A. Prenatal development of the maxillary sinus: a perspective for paranasal sinus surgery / A. Nuñez-Castruita, N. López-Serna, S. Guzmán-López // Otolaryng. Head Neck. – 2012. – Vol. 146, N 6. – P. 997–1003. https://doi.org/10.1177/0194599811435883

5. Maxillary Sinus: Medical and Surgical Management / ed.: J. A. Duncavage, S. S. Becker. – 1st ed. – New York : Thieme Medical Publishers, 2010. – 272 p.

6. Kosko, J. R. Acquired maxillary sinus hypoplasia A consequence of endoscopic sinus surgery? / J. R. Kosko, B. E. Hall, D. E. Tunkel // Laryngoscope. – 1996. – Vol. 106, N 10. – P. 1210–1213. https://doi.org/10.1097/00005537-199610000-00006

7. Bilateral maxillary sinus hypoplasia / S. Khanduri [et al.] // Case Rep. Radiol. – 2014. – Vol. 2014. https://doi.org/10.1155/2014/148940

8. Maxillary sinus hypoplasia and superior orbital fissure asymmetry / A. Bassiouny [et al.] // Laryngoscope. – 1982. – Vol. 92, N 4. – P. 441–448. https://doi.org/10.1288/00005537-198204000-00014

9. von Arx, T. Maxillary sinus / T. von Arx, S. Lozanoff // Clinical Oral Anatomy: A Comprehensive Review for Dental Practitioners and Researchers. – Springer, 2017. – Ch. 9. – P. 163–197.

10. Maxillary sinus dimensions decrease as age and tooth loss increase / M. Velasco-Torres [et al.] // Implant Dent. – 2017. – Vol. 26, N 2. – P. 288–295. https://doi.org/10.1097/ID.0000000000000551

11. Hamdy, R. M. Three-dimensional linear and volumetric analysis of maxillary sinus pneumatization / R. M. Hamdy, N. Abdel-Wahed // J. Adv. Res. – 2014. – Vol. 5, N 3. – P. 387–395. https://doi.org/10.1016/j.jare.2013.06.006

12. Cephalometric analysis for gender determination using maxillary sinus index: a novel dimension in personal identification / T. Khaitan [et al.] // Int. J. Dent. – 2017. – Vol. 2017. – Art. ID 7026796. https://doi.org/10.1155/2017/7026796

13. Gender determination using maxillary sinus index on lateral cephalograms – a retrospective study / N. Velpula [et al.] // Int. J. Sci. Res. – 2020. – Vol. 9, N 1. – P. 33–35.

14. Computed tomographic indices for maxillary sinus size in comparison with the sinus volume / Y. Ariji [et al.] // Dentomaxillofac. Rad. – 1996. – Vol. 25, N 1. – P. 19–24. https://doi.org/10.1259/dmfr.25.1.9084281

15. Изменение формы и степени пневматизации верхнечелюстных пазух при потере зубов у взрослого человека / И. В. Гайворонский [и др.] // Курск. науч.-практ. вестн. «Человек и его здоровье». – 2016. – № 1. – С. 91–95.

16. Sharan, A. Maxillary sinus pneumatization following extraction: a radiographic study / A. Sharan, D. Madjar // Int. J. Oral Maxillofac. Implants. – 2008. – Vol. 23, N 1. – P. 48–56.

17. Harorh, A. The comparison of vertical height and width of maxillary sinus by means of Waters' view radiograms taken from dentate and edentulous cases / A. Harorh, O. Bocutoğlu // Ann. Dent. – 1995. – Vol. 54, N 1–2. – P. 47–49.

18. Age changes in the volume of the human maxillary sinus: a study using computed tomography / Y. Ariji [et al.] // Dentomaxillofac. Rad. – 1994. – Vol. 23, N 3. – P. 163–168. https://doi.org/10.1259/dmfr.23.3.7835518

19. A cadaveric study of maxillary sinus size as an aid in bone grafting of the maxillary sinus floor / Y. Uchida [et al.] // J. Oral Maxillofac. Surg. – 1998. – Vol. 56, N 10. – P. 1158–1163. https://doi.org/10.1016/s0278-2391(98)90761-3

20. Computed tomography measurements of different dimensions of maxillary and frontal sinuses / P. Sahlstrand-Johnson [et al.] // BMC Med. Imaging. – 2011. – Vol. 11, N 1. https://doi.org/10.1186/1471-2342-11-8

21. Morphometric analysis of the maxillary sinus in patients with nasal septum deviation / I. Orhan [et al.] // Eur. Arch. Otorhinolaryngol. – 2014. – Vol. 271, N 4. – P. 727–732. https://doi.org/10.1007/s00405-013-2617-7

22. The diagnostic value of anthropometric indices of maxillary sinuses for sex determination using CT-scan images in Iranian adults: A cross-sectional study / M. Akhlaghi [et al.] // J. Forensic Leg. Med. – 2017. – N 49. – P. 94–100. https://doi.org/10.1016/j.jflm.2017.05.017

23. Karakas, S. Morphometric examination of the paranasal sinuses and mastoid air cells using computed tomography / S. Karakas, A. Kavakli // Ann. Saudi Med. – 2005. – Vol. 25, N 1. – P. 41–45. https://doi.org/10.5144/0256-4947.2005.41

24. Fernandes, C. L. Forensic Ethnic Identification of Crania / C. L. Fernandes // Am. J. Foren. Med. Path. – 2004. – Vol. 25, N 4. – P. 302–313. https://doi.org/10.1097/01.paf.0000146379.85804.da

25. Introducing a simple method of maxillary sinus volume assessment based on linear dimensions / A. Przystańska [et al.] // Ann. Anat. – 2018. – N 215. – P. 47–51. https://doi.org/10.1016/j.aanat.2017.09.010

26. Three-dimensional CAD/CAM imaging of the maxillary sinus in ageing process / K. Lovasova [et al.] // Ann. Anat. – 2018. – N 218. – P. 69–82. https://doi.org/10.1016/j.aanat.2018.01.008

27. Кармалькова, Е. А. Лицо человека / Е. А. Кармалькова, Т. В Третьякова, В. Н. Белевич // Воен. медицина. – 2012. – № 4. – С. 33–38.

28. CT-based manual segmentation and evaluation of paranasal sinuses / S. Pirner [et al.] // Eur. Arch. Otorhinolaryngol. – 2009. – Vol. 266, N 4. – P. 507–518. https://doi.org/10.1007/s00405-008-0777-7

29. A study of the maxillary sinus volume in elderly persons using japanese cadavers / Y. Takahashi [et al.] // Okajimas Folia Anat. Jpn. – 2016. – Vol. 93, N 1. – P. 21–27. https://doi.org/10.2535/ofaj.93.21

30. The analysis of maxillary sinus aeration according to aging process; volume assessment by 3-dimensional reconstruction by high-resolutional CT scanning / B. C. Jun [et al.] // Otolaryngol. Head Neck Surg. – 2005. – Vol. 132, N 3. – P. 429–434. https://doi.org/10.1016/j.otohns.2004.11.012

References

1. Iwanaga J., Wilson C., Lachkar S., Tomaszewski K. A., Walocha J. A., Tubbs R. S. Clinical anatomy of the maxillary sinus: application to sinus floor augmentation. *Anatomy and Cell Biology*, 2019, vol. 52, no. 1, pp. 17–24. https://doi.org/10.5115/acb.2019.52.1.17

2. Levenets O. A., Levenets A. A., Alyamovskii V. V. Types characteristics and structure forms of maxillary sinus. *Sibirskoe meditsinskoe obozrenie = Siberian medical review*, 2016, no. 4, pp. 57–63 (in Russian).

3. Gaivoronskii I. V., Smirnova M. A., Gaivoronskaya M. G. Anatomical correlations for different variants of the structure of the maxillary sinus and the alveolar process of the upper jaw. *Vestnik Sankt-Peterburgskogo universiteta. Meditsina = Vestnik of Saint-Petersburg University. Medicine*, 2008, no. 3, pp. 95–99 (in Russian).

4. Nuñez-Castruita A., López-Serna N., Guzmán-López S. Prenatal development of the maxillary sinus: a perspective for paranasal sinus surgery. *Otolaryngology – Head and Neck Surgery*, 2012, vol. 146, no. 6, pp. 997–1003. https://doi.org/10.1177/0194599811435883

5. Duncavage J. A., Becker S. S. *Maxillary sinus: medical and surgical management.* New York, Thieme Medical Publishers, 2010. 272 p.

6. Kosko J. R., Hall B. E., Tunkel D. E. Acquired maxillary sinus hypoplasia A consequence of endoscopic sinus surgery? *Laryngoscope*, 1996, vol. 106, no. 10, pp. 1210–1213.

7. Khanduri S., Agrawal S., Chhabra S., Goyal S. Bilateral Maxillary Sinus Hypoplasia. *Case Reports in Radiology*, 2014, vol. 2014. https://doi.org/10.1155/2014/148940

8. Bassiouny A., Newlands W. J., Ali H., Zaki Y. Maxillary sinus hypoplasia and superior orbital fissure asymmetry. *Laryngoscope*, 1982, vol. 92, no. 4, pp. 441–448. https://doi.org/10.1288/00005537-198204000-00014

9. von Arx T., Lozanoff S. Maxillary sinus. *Clinical Oral Anatomy: A Comprehensive Review for Dental Practitioners and Researchers*. Springer, 2017, ch. 9, pp. 163–197.

10. Velasco-Torres M., Padial-Molina M., Avila-Ortiz G. García-Delgado R., O'Valle F., Catena A., Galindo-Moreno P. Maxillary sinus dimensions decrease as age and tooth loss increase. *Implant Dentistry*, 2017, vol. 26, no. 2, pp. 288–295. https://doi.org/10.1097/ID.0000000000000551

11. Hamdy R. M., Abdel-Wahed N. Three-dimensional linear and volumetric analysis of maxillary sinus pneumatization. *Journal of Advanced Research*, 2014, vol. 5, no. 3, pp. 387–395. https://doi.org/10.1016/j.jare.2013.06.006

12. Khaitan T., Kabiraj A., Ginjupally U., Jain R. Cephalometric analysis for gender determination using maxillary sinus index: a novel dimension in personal identification. *International Journal of Dentistry*, 2017, vol. 2017, art. ID 7026796. https://doi.org/10.1155/2017/7026796

13. Velpula N., Ramesh A., Tejavath S., Zardi F. T., Sam D. M., Tandon R. Gender determination using maxillary sinus index on lateral cephalograms – a retrospective study. *International Journal of Scientific Research*, 2020, vol. 9, no. 3, pp. 33–35.

14. Ariji Y., Ariji E., Yoshiura K., Kanda S. Computed tomographic indices for maxillary sinus size in comparison with the sinus volume. *Dentomaxillofacial Radiology*, 1996, vol. 25, no. 1, pp. 19–24. https://doi.org/10.1259/dmfr.25.1.9084281

15. Gaivoronskii I. V., Gaivoronskaya M. G., Semenova A. A., Ponomarev A. A. Changes of maxillary sinus form and degree of pneumatization after teeth loss in adults. *Kurskii nauchno-prakticheskii vestnik "Chelovek i ego zdorov'e"* [Kursk scientific and practical bulletin "Man and His Health"], 2016, no. 1, pp. 91–95 (in Russian).

16. Sharan A., Madjar D. Maxillary sinus pneumatization following extraction: a radiographic study. *International Journal of Oral and Maxillofacial Implants*, 2008, vol. 23, no. 1, pp. 48–56.

17. Harorh A., Bocutoğlu O. The comparison of vertical height and width of maxillary sinus by means of Waters' view radiograms taken from dentate and edentulous cases. *Annals of Dentistry*, 1995, vol. 54, no. 1–2, pp. 47–49.

18. Ariji Y., Kuroki T., Moriguchi S., Ariji E., Kanda S. Age changes in the volume of the human maxillary sinus: a study using computed tomography. *Dentomaxillofacial Radiology*, 1994, vol. 23, no. 3, pp. 163–168. https://doi.org/10.1259/dmfr.23.3.7835518

19. Uchida Y., Goto M., Katsuki T., Akiyoshi T. A cadaveric study of maxillary sinus size as an aid in bone grafting of the maxillary sinus floor. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 1998, vol. 56, no. 10, pp. 1158–1163. https://doi.org/10.1016/s0278-2391(98)90761-3

20. Sahlstrand-Johnson P., Jannert M., Strömbeck A., Abul-Kasim K. Computed tomography measurements of different dimensions of maxillary and frontal sinuses. *BMC Medical Imaging*, 2011, vol. 11, no. 1, pp. 163–168. https://doi.org/10.1186/1471-2342-11-8

21. Orhan I., Ormeci T., Aydin S., Altin G., Urger E., Soylu E., Yilmaz F. Morphometric analysis of the maxillary sinus in patients with nasal septum deviation. *European Archives of Otorhinolaryngology*, 2014, vol. 271, no. 4, pp. 727–732. https://doi.org/10.1007/s00405-013-2617-7

22. Akhlaghi M., Bakhtavar K., Kamali A., Maarefdoost J., Sheikhazadi A., Mousavi F., Anary S. H. S., Sheikhazadi E. The diagnostic value of anthropometric indices of maxillary sinuses for sex determination using CT-scan images in Iranian adults: a cross-sectional study. *Journal of Forensic and Legal Medicine*, 2017, vol. 49, pp. 94–100. https://doi.org/10.1016/j.jflm.2017.05.017

23. Karakas S., Kavakli A. Morphometric examination of the paranasal sinuses and mastoid air cells using computed tomography. *Annals of Saudi Medicine*, 2005, vol. 25, no. 1, pp. 41–45. https://doi.org/10.5144/0256-4947.2005.41

24. Fernandes C. L. Forensic Ethnic Identification of Crania. *American Journal of Forensic Medicine and Pathology*, 2004, vol. 25, no. 4, pp. 302–313. https://doi.org/10.1097/01.paf.0000146379.85804.da

25. Przystańska A., Kulczyk T., Rewekant A., Sroka A., Jończyk-Potoczna K., Lorkiewicz-Muszyńska D., Gawriołek K., Czajka-Jakubowska A. Introducing a simple method of maxillary sinus volume assessment based on linear dimensions. *Annals of Anatomy – Anatomischer Anzeiger*, 2018, vol. 215, pp. 47–51. https://doi.org/10.1016/j.aanat.2017.09.010

26. Lovasova K., Kachlik D., Rozpravkova M., Matusevska M., Ferkova J., Kluchova D. Three-dimensional CAD/CAM imaging of the maxillary sinus in ageing process. *Annals of Anatomy – Anatomischer Anzeiger*, 2018, vol. 218, pp. 69–82. https://doi.org/10.1016/j.aanat.2018.01.008

27. Karmal'kova E. A., Tret'yakova T. V, Belevich V. N. The face of child and adult. *Voennaya meditsina = Military medicine*, 2012, no. 4, pp. 33–38 (in Russian).

28. Pirner S., Tingelhoff K., Wagner I., Westphal R., Rilk M., Wahl F. M., Bootz F., Eichhorn K. W. CT-based manual segmentation and evaluation of paranasal sinuses. *European Archives of Otorhinolaryngology*, 2009, vol. 266, no. 4, pp. 507–518. https://doi.org/10.1007/s00405-008-0777-7

29. Takahashi Y., Watanabe T., Iimura A., Takahashi O. A study of the maxillary sinus volume in elderly persons using japanese cadavers. *Okajimas Folia Anatomica Japonica*, 2016, vol. 93, no. 1, pp. 21–27. https://doi.org/10.2535/ofaj.93.21

30. Jun B.-C., Song S.-W., Park C.-S., Lee D.-H., Cho K.-J., Cho J.-H. The analysis of maxillary sinus aeration according to aging process; volume assessment by 3-dimensional reconstruction by high-resolutional CT scanning. *Otolaryngology – Head and Neck Surgery*, 2005, vol. 132, no. 3, pp. 429–434. https://doi.org/10.1016/j.otohns.2004.11.012

Информация об авторах

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

Саврасова Нина Александровна – канд. мед. наук, доцент, врач-рентгенолог. Медицинский центр «ЛОДЭ» (пр. Независимости, 58А, 220005, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: ninasavrassova@tut.by

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

Журавлева Наталья Викторовна – канд. мед. наук, доцент. Белорусский государственный медицинский университет (пр. Дзержинского, 83, 220116, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: natallia.zhuravleva@gmail.com

Мехтиев Руслан Салманович – ассистент. Белорусский государственный медицинский университет (пр. Дзержинского, 83, 220116, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: mekhtiev.r.s@gmail.com

Information about the authors

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

Nina A. Savrasova – Ph. D. (Med.), Associate Professor, Radiologist. Medical center "LODE" (58A, Nezavisimosti Ave., 220005, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: ninasavrassova@tut.by

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

Natallia V. Zhuravleva – Ph. D. (Med.), Associate Professor. Belarusian State Medical University (83, Dzerzhynski Ave., 220116, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: natallia.zhuravleva@gmail.com

Ruslan S. Mekhtiev – Assistant. Belarusian State Medical University (83, Dzerzhynski Ave., 220116, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: mekhtiev.r.s@gmail.com

ISSN 1814-6023 (Print)
ISSN 2524-2350 (Online)
UDC 616-072
https://doi.org/10.29235/1814-6023-2021-18-1-16-24 Received 15.06.2020

Dzmitry N. Sankovets[1], Tatyana V. Gnedko[2], Andrey M. Vitushka[1], Oksana Ja. Svirskaya[1]

[1]National Scientific Practical Centre "Mother and Child", Minsk, Republic of Belarus
[2]National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus

A COMPREHENSIVE PROGRAM OF OPTIMIZATION THE BRAIN OXYGEN STATUS IN NEWBORNS WITH RESPIRATORY DISORDERS BASED ON TARGETING REGIONAL OXYGENATION

Abstract. NIRS provides the ability to obtain information about the brain oxygen status non-invasively. Therefore, potentially, this technology can make it possible to correct therapy that affects the blood and oxygen supply to the brain.

The aim of our study was to develop a guideline for a dynamic monitoring of the oxygen status based on regional oxygenation data, as well as an effective therapeutic tool for newborns with respiratory distress.

78 newborns with respiratory disorders were included (37 late preterm and 41 full-term) in this observational cohort study. In addition to a standard cardiorespiratory monitoring, a simultaneous monitoring of abdominal and cerebral oxygenation was performed during the early neonatal period.

The developed treatment guideline was based on a multisystem approach in diagnosis and optimization of the brain oxygen delivery and consumption. The proposed algorithm focused on maintaining an adequate perfusion pressure, cardiac output, oxygen, and carbon dioxide content in the arterial blood in newborns with respiratory disorders.

Implementing the developed treatment guideline in the neonatal intensive care units should increase the treatment effectiveness in newborns with respiratory disorders.

Implementation developed treatment guideline in the neonatal intensive care units should increase the effectiveness of treatment in newborns with respiratory disorders.

Keywords: near infrared spectroscopy, newborn, oxygen status, respiratory disorders, treatment guideline

For citation: Sankovets D. N., Gnedko T. V., Vitushka A. M., Svirskaya O. Ja. A comprehensive program of optimization the brain oxygen status in newborns with respiratory disorders based on targeting regional oxygenation. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seriya meditsinskikh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2021, vol. 18, no. 1, pp. 16–24. https://doi.org/10.29235/1814-6023-2021-18-1-16-24

Д. Н. Санковец[1], Т. В. Гнедько[2], А. Н. Витушко[1], О. Я. Свирская[1]

[1]Республиканский научно-практический центр «Мать и дитя», Минск, Республика Беларусь
[2]Национальная академия наук Беларуси, Минск, Республика Беларусь

ИНТЕГРИРОВАННАЯ ПРОГРАММА ОПТИМИЗАЦИИ КИСЛОРОДНОГО СТАТУСА ГОЛОВНОГО МОЗГА У НОВОРОЖДЕННЫХ С РЕСПИРАТОРНЫМИ РАССТРОЙСТВАМИ ПО ДАННЫМ РЕГИОНАЛЬНОЙ ОКСИГЕНАЦИИ

Аннотация. Использование метода NIRS позволяет неинвазивно получать информацию о кислородном статусе головного мозга, а следовательно, проводить коррекцию терапии, влияющей в том числе на кровоснабжение и доставку кислорода к головному мозгу.

Цель исследования – разработать интегрированную программу динамического контроля кислородного статуса с учетом данных региональной оксигенации, а также комплекс эффективных лечебных мероприятий у новорожденных с респираторными расстройствами.

В исследование было включено 78 новорожденных детей с клинико-лабораторными проявлениями дыхательного расстройства. На протяжении раннего неонатального периода в дополнение к стандартному мониторингу кардиореспираторного статуса проводили параллельное измерение абдоминальной и церебральной оксигенации.

Разработанная программа основана на мультисистемном подходе к диагностике и оптимизации доставки и потребления кислорода головным мозгом посредством поддержания адекватного перфузионного давления, сердечного выброса, содержания кислорода и углекислого газа в артериальной крови новорожденных с респираторными расстройствами.

Включение в интегрированную программу мониторинга кислородного статуса, динамического контроля региональной оксигенации, а также разработанного на его основе комплекса эффективных лечебных мероприятий позволит повысить эффективность проводимого лечения у новорожденных с респираторными расстройствами.

Ключевые слова: спектроскопия в близком к инфракрасному спектру, новорожденный, доставка кислорода, потребление кислорода, практические рекомендации

Для цитирования: Интегрированная программа оптимизации кислородного статуса головного мозга у новорожденных с респираторными расстройствами по данным региональной оксигенации / Д. Н. Санковец [и др.] // Вес. Нац. акад. навук Беларусі. Сер. мед. навук. – 2021. – Т. 18, № 1. – С. 16–24 (*на англ.*). https://doi.org/10.29235/1814-6023-2021-18-1-16-24

Introduction. Despite the fact that NIRS technology (near-infrared spectroscopy) introduced into clinical practice almost 40 years ago, it is only in the last decade has becoming more common in the neonatal intensive care unit (NICU) [1]. As we know, NIRS provides continuous non-invasive measurement of regional tissue oxygenation (rSO_2), and its ease of use and high potential for practical healthcare has contributed to its wider implementation in the management of critical ill patients, especially preterm in NICU. The benefits of NIRS implementation in a comprehensive newborn monitoring program described earlier, however, evidence supporting the potential utility of NIRS independently, or in conjunction with other modalities is growing [2, 3].

Awareness of the importance of interpreting physiological data in context of each patient has led to a change the clinical paradigm from a "one size fits all" approach to a personalized one focused on achieving the optimal functional level of vital systems in individual infant. As a result, the problem facing many clinicians is the interpretation of this relatively new monitoring method. Both discrete and trend values are rich in information, however, in contrast to the well-known pulse oximetry, rSO_2 is determined by a wider range of physiological determinants [4]. In this context, correct interpretation of the NIRS-derived data, on the one hand will have fundamental importance for provide the appropriate interventions, and on the other, it will allow looking at the pathophysiology of disease from a different angle.

The aim of our study was to develop a guideline for dynamic monitoring of oxygen status based on rSO_2 data, as well as an effective therapeutic tool for newborns with respiratory distress.

Materials and research methods. From February 2013 to March 2016, we conducted this observational cohort study in our NICU in the National Scientific Practical Centre "Mother and Child". Seventy-eight newborns with respiratory disorders were enrolled (37 late preterm and 41 full-term). Recording the data began from the moment of birth (in the delivery room or operating room) and dynamically continued for the first 7 days of life.

Inclusion criteria: gestation age from 30 to 42 weeks; presence of respiratory distress requiring any respiratory support (oxygen therapy, non-invasive ventilation, conventional and high-frequency mechanical ventilation); arterial line for direct blood pressure and blood gases monitoring. Infants with congenital heart disease, multiple congenital malformations, history of sepsis, and surgical pathology were excluded.

In addition to standard cardiorespiratory monitoring, a simultaneous monitoring of abdominal and cerebral oxygenation were performed by the "INVOS 5100C" (Covidien, Medtronic, USA) with the Pediatric SomaSensor (SAFB-SM).

Unlike pulse oximetry (SpO_2), NIRS expresses full tissue hemoglobin oxygenation without subtraction of non-arterial data (venous and capillary). Thus, NIRS reflects the ratio of oxygenated to total hemoglobin for the mixed arterial, capillary, and venous vascular compartment underlying a given probe [1]. Regional oxygenation reflect the oxygen saturation in the venous (70 to 80 %), arterial (20 to 25 %) and capillary (5 %) [5]. Hence, as NIRS provides mainly information about hemoglobin oxygenation in post-capillary tissues, regional oxygenation can be considered as surrogate measures of the local oxygen utilization.

To assess cerebral oxygenation ($crSO_2$), the NIRS sensor was placed on the forehead, in the case of abdominal oxygenation ($abdSO_2$) – on the midline of the abdomen, above the pubic region (Fig. 1). All staff members attending were trained to use the device.

To better understand the balance between brain oxygen delivery and oxygen consumption, we used the cFTOE (cerebral fractional tissue oxygen extraction) then can be calculated from $crSO_2$ and arterial oxygen saturation: $(SpO_2 – crSO_2)/SpO_2$.

From clinical experience, cFTOE, calculated on the basis of NIRS and pulse oximetry data, showed a significant correlation with FTOE calculated during direct (invasive) measurement of oxygen content in venous and arterial blood in neonatal piglet model [6]. Thus, an increase in FTOE suggests an increase



Fig. 1. Cardiorespiratory monitoring and probe positions during NIRS

in the oxygen extraction by the tissues due to higher oxygen consumption in relation to oxygen delivery, while a decrease suggests less oxygen use compared to the supply. This also relatively compensates for low arterial oxygen content, as is often the case in newborns with lung disease or congenital heart defects [7].

To assess systemic perfusion, another NIRS-derived coefficient was used SCOR (splanchnic-cerebro oxygenation ratio). SCOR can be calculated from cerebral and abdominal regional oxygenation: $abdSO_2/crSO_2$.

In addition to the aforementioned NIRS data, we also analyzed the following: $crSO_2min$ is the daily minimal $crSO_2$, $crSO_2max$ is the daily maximum $crSO_2$, $\Delta crSO_2$ is the daily amplitude of cerebral regional oxygen saturation (calculated as the difference between $crSO_2max$ and $crSO_2min$), $abdSO_2min$ is daily minimal $abdSO_2$, $abdSO_2max$ is the daily maximum $abdSO_2$, $\Delta abdSO_2$ is the daily amplitude of abdominal regional oxygen saturation (calculated as the difference between $abdSO_2max$ and $abdSO_2min$).

To minimize the impact of third-party factors monitoring was carried out during calm patient state (without sedation), outside the phototherapy period and began at least one hour after enteral feeding [2, 8].

Respiratory and hemodynamic support was carried out in accordance with the local NICU guidelines and the clinical protocols for intensive care in neonatology (order of the Ministry of Health of the Republic of Belarus dated January 28, 2011, No. 81).

Evaluation of blood gas parameters was performed with “ABL – 835 Flex” (Radiometer, Denmark). After collection arterial blood samples were immediately injected into a co-oximeter. We evaluated: PaO_2 – oxygen tension, mmHg, ctO_2 – the total content of oxygen, ml/dl, Lactate – lactate concentration, mmol/l, pH – the negative logarithm of the hydrogen ion activity, $PaCO_2$ – carbon dioxide tension, mmHg, p50 – oxygen tension at 50 % saturation of blood, mmHg. Paired assessments of blood gas parameters and regional oxygenation undertaken whenever an ABG was conducted as part of necessary patient care.

Echocardiography (ECHO) measurements were performed using commercially available Philips HD 11 XE (USA) in M-, B-, Doppler modes and in tissue Doppler imaging mode. For quantitative

assessment of left ventricular function were used the common echocardiographic parameters: fraction shortening (FS), ejection fraction (EF). Pulmonary hypertension was defined based on the ratio of pulmonary artery pressure to systemic blood flow. Assessment of pulmonary artery pressure was carried out by tricuspid regurgitation peak velocity or by Kitabatake's method.

Data are presented as mean values ± SD for normally distributed continuous variables and median (interquartile range) when the distribution was skewed. Differences between the two groups were assessed using Mann–Whitney *U*-test for non-parametric data, Student's *t*-test for parametric data or χ^2-test for categorical measurements. A correlation analysis was performed to investigate if there was an association between between regional oxygenation and red blood cell parameters, as well as arterial blood gas data. Correlations were performed using Spearman's rank correlation coefficient (ρ) or Pearson's correlation where appropriate. The pre- and post-transfusion values of all measurements were compared using Wilcoxon matched pairs test. To identify physiological determinants of cerebral oxegenation and cFTOE simultaneous multiple linear regression was performed. Checking for multicollinearity before building a multiple regression model was carried out based on the analysis of the Variance Inflation Factor and the correlation matrix. To calculate the probability that a stabilization of the cardiorespiratory status (weaning from inotropes/vasopressors and mechanical ventilation) will occur at certain points in time, the Kaplan–Meier method was used. To compare groups a log-rank test was performed. $p < 0.05$ was considered statistically significant. The statistical analyses were performed using MedCalc 19.1 (MedCalc Software Ltd., Ostend, Belgium).

Results and its discussion. In this study 78 newborn infants with respiratory disorder requiring respiratory support (non-invasive, conventional or high-frequency oscillatory lung ventilation) were included. According to the tasks of the study, clinical and statistical hypotheses were made. The flow chart of the study was developed (Fig. 2).

Condition of all included newborns considered as severe because of profound pulmonary insufficiency with hemodynamic instability. All patients were provided with central venous catheter for inotropic and vasopressor support. Clinical characteristics of patients are outlined in the Table.

First we checked the assumption that regional oxygenation's data could be used as a tool for estimation the effectiveness of respiratory and hemodynamic support. We revealed that $\Delta crSO_2$ has statistically significant differences depending of initial clinical status at the beginning of intensive care and in the period of further stabilization. Patients with more severe clinical status had more statistically significant daily shifts of $crSO_2$ ($p < 0.0001$). Patients who was stabilized (weaning from inotropes/vasopressors and mechanical

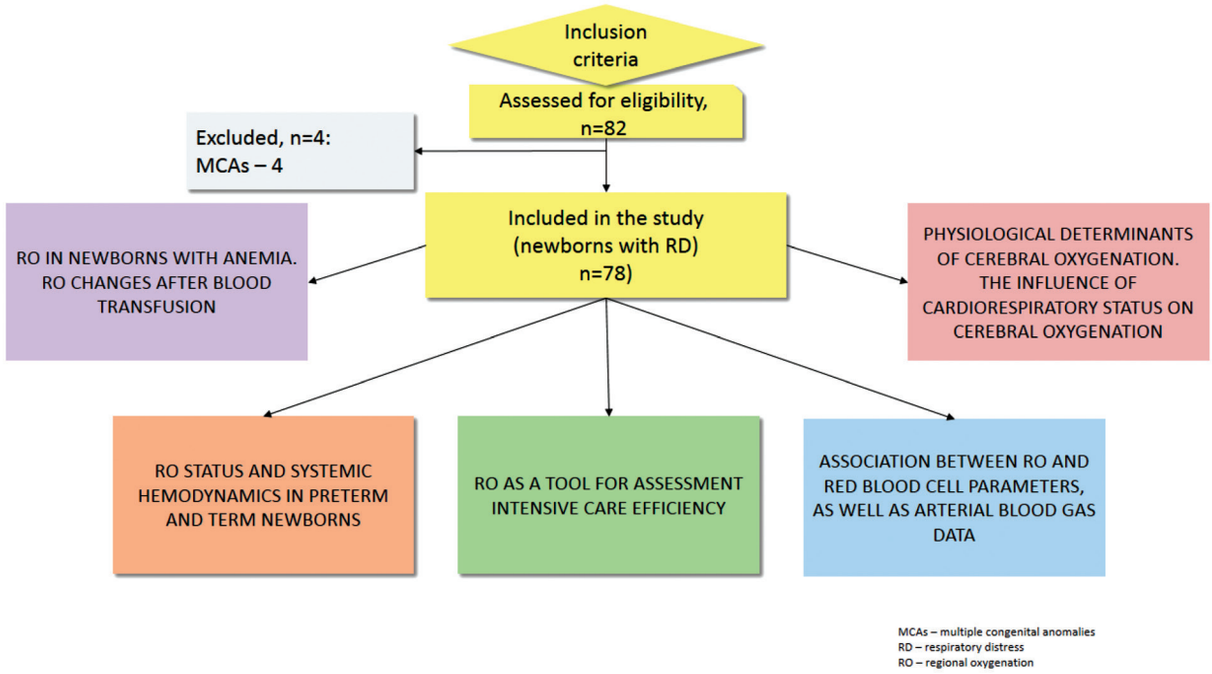


Fig. 2. Study flow chart

Main clinical characteristics of studied patients

Characteristic	Value
Gestational age, weeks: preterm, *n* term, *n*	37 (34; 39) 37 41
Birth weight, g	2994.6 ± 678.6
Apgar score at 1 min	8 (6; 8)
Sex, *n*: male female	 46 32
Delivery mode, *n*: vaginal delivery Cesarean section	 25 53
Respiratory support, *n*: non-invasive CMV HFO	 2 56 20
Hemodynamic support, *n*: none dopamine dopamine + (adrenaline/noradrenaline)	 4 42 32
Clinical diagnosis, *n*: congenital pneumonia unspecified intrauterine infection respiratory distress syndrome (RDS) congenital pneumonia + RDS	 38 8 4 28

ventilation) to 96 hours of life had $\Delta crSO_2$ lower than those, who was stabilized to 7 days of life as well as those who did not reach hemodynamic stability in early neonatal period 8 (5; 15) % vs 11 (8; 14) and 13 (9; 22) % respectively. Moreover, we found that premature infants with $\Delta crSO_2 \leq 20$ % in the first day of life had probability of reaching cardio-pulmonary stability in early neonatal period 3.3 times higher (95 % CI (1.5–6.9), $p_{log-rank} = 0.0023$) compared with patients with $\Delta crSO_2$ more than 20 % during the 1st day of life.

Both very low and very high values of daily $crSO_2$ could contribute to the increase of $\Delta crSO_2$. As target we considered $crSO_2$ and cFTOE values 78 ± 7 % and 0.22 ± 0.07 which are stated to be "physiologic" according the literature and confirmed by us during pilot study [9, 10].

Cerebral oxygenation levels laying out of physiologic values give us signs of imbalance between oxygen delivery and consumption so multisystem assessment of patient is needed (Fig. 3).

Estimation of hemodynamic status. Cerebral autoregulation is known to be a mechanism that allows to mitigate effects of systemic pressure fluctuations on brain blood flow. That's why $crSO_2$ levels below physiologic range in patient with systemic hypotension are most likely to indicate loss of auto-regulation and require immediate intervention to increase cardiac output and tissue perfusion. As we established, the negative relationship between the blood lactate level and the value of the $crSO_2$, as well as the positive one with cFTOE indirectly confirm this fact [11]. Increase of lactate (traditional marker of hypoperfusion and tissue hypoxia) is accompanied, under equal conditions, by a reduction in the supply of oxygen to tissues and an increase in O_2 extraction. As a results, we will see certain $crSO_2$ changes reflecting impaired oxygen status of the brain. As the first markers of systemic hypoperfusion we recommend to use indicators widely available in everyday clinical practice: prolonged capillary refill time, oliguria and arterial lactate.

According to our data, the SCOR coefficient is a useful clinical tool to evaluate end-organ hypoperfusion. As we found SCOR below 0.80 indicated hypoperfusion with a sensitivity of 53.4 % and a specificity of 85.9 % [12].

Bedside echocardiography is an integral part of the modern approach in assessing hemodynamic status in newborns [13]. But ECHO data also add useful information about the effectiveness of oxygen delivery to the brain. In particular, our study found that the systolic function of left ventricle was positively

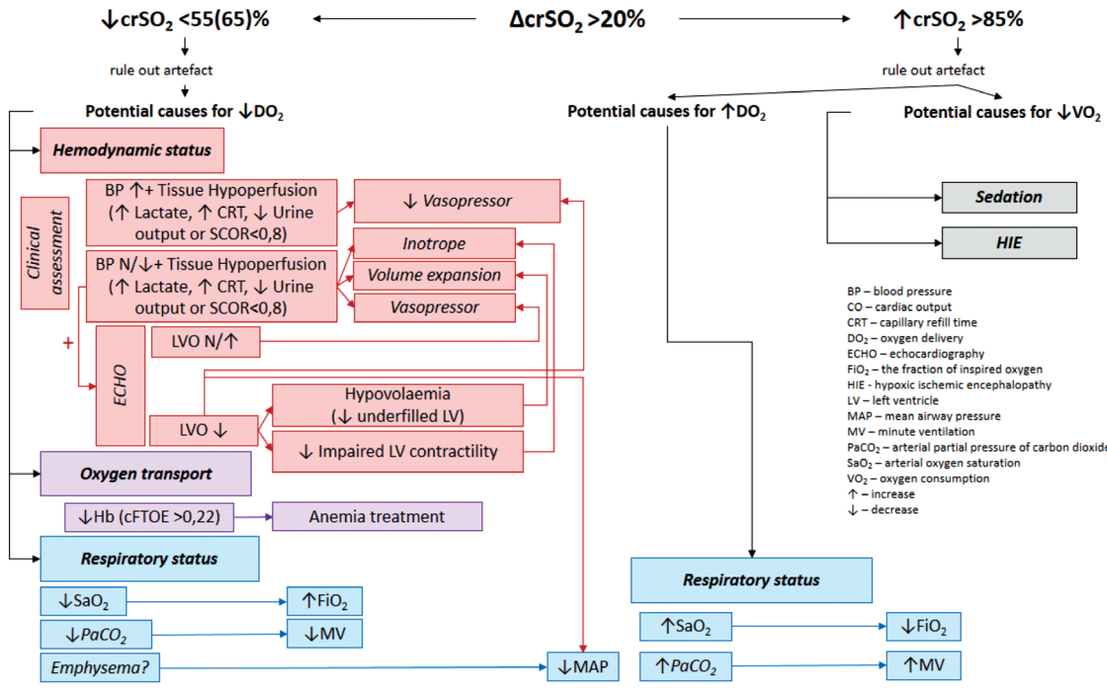


Fig. 3. A comprehensive program for improving of cerebral oxygenation in newborns with respiratory disorders

correlated with cerebral oxygenation (for EF: $r = 0.42$, $p = 0.006$; for FS: $r = 0.44$, $p = 0.005$) and negatively correlated with cFTOE (для EF: $r = –0.42$, $p = 0.007$; for FS: $r = –0.44$, $p = 0.005$).

It has been proved that the use of both dopamine and epinephrine for early systemic hypotension in newborn improves brain perfusion and oxygenation [14]. Noteworthy that vasopressors use (epinephrine and norepinephrine) for hemodynamic instability in newborns increase preload because of α-adrenoreceptor mediated peripheral vasoconstriction. As a result, heart contractility (and eventually brain perfusion) could be compromised so echocardiographic assessment of such patients is required. As our study shows, newborns received combination: dopamine ≥10 mcg/kg·min and epinephrine (norepinephrine) ≥0.05 mcg/kg·min, had highest level mean arterial pressure and at the same time lowest level of $crSO_2$ and closed to minimal indicators of left ventricle's function (EF and FS) [15]. In addition, the use of epinephrine and norepinephrine in newborn infants, even in case of reduced peripheral vascular resistance (dopamine-refractory distributive shock), may involve adverse changes in the oxygen status of the brain [16]. Thus, in our view, diminishing the dose of vasopressor (if already used) in case of low cardiac output and decreased cerebral oxygenation seems a reasonable tactic.

Evaluation of blood oxygen transport. We found statistically significant correlations between $crSO_2$ and cFTOE on the one hand, and erythrocyte count, hemoglobin, and hematocrit on the other, confirming the statement that $crSO_2$ depends on the appropriate delivery of oxygen to the brain [11]. We have shown that tissue oxygenation impairment in newborns with respiratory distress and anemia manifests not only with such invasive criteria like decrease of systolic blood pressure or arterial lactate elevation but also non-invasive indicators like falling of $crSO_2$ and increase of cFTOE.

It is known that NIRS data tended to return to normal after the correction of the anemia [17]. It has also been found that a newborn with a cFTOE > 0.22 is 3.5 times more likely to have anemia requiring blood transfusion [17]. Additionally, as we have shown earlier, correction of hemoglobin by blood transfusion in full-term newborns with hemolytic anemia also was accompanied by increase of $crSO_2$ [18]. So it is clear that NIRS can be used in NICU not only for early diagnosis of tissue oxygen imbalance because of anemia, but also for monitoring of the effectiveness of blood transfusion.

Evaluation of respiratory status. It is widely known now that $PaCO_2$ is a major determinant of cerebral perfusion and consequently oxygen status of the brain [19]. Significant positive correlation between $PaCO_2$ and $crSO_2$ also confirms this statement [11, 15]. It is extremely important in case of mechanical ventilation in newborns because it could be accompanied with inadvertent hyperventilation and hyperoxia [15].

For example, we established by ROC-analysis that $crSO_2 \leq 66$ % in infant on ventilation and combined inotropic support may indicate the presence of hypocapnia with sensitivity of 40.0 % and specificity of 100 % (AUC = 0.670, $p = 0.0343$) [15]. Thus, in our opinion, the reduction of the minute volume of ventilation is justified not only in the case of hypocapnia, but also in clinical situation when $PaCO_2$ approaches the lower limits and simultaneously the $crSO_2$ is below physiologic range.

Lung ventilation has negative influence on systemic hemodynamics and brain blood flow because of increase of intrathoracic pressure reducing preload (and eventually cardiac output) and hampering venous return from the brain [20]. Our previous study about predictors of $crSO_2$ in newborns on respiratory support revealed that $crSO_2$ was inversely correlated with mean airway pressure [15]. This means that when patient on ventilation have a downward $crSO_2$ trend (especially when left heart contractility decreased) lung emphysema should be excluded and MAP should be diminished.

Until recently, pulse oximetry was the only effective method of controlling oxygen supply to meet metabolic needs. Despite that, monitoring SpO_2 solely do not provide the information about adequacy of oxygen supply of the brain. As widely known, the most typical response on the desaturation in newborn patients is giving an additional oxygen. Almost every time when stable desaturation occurs the fraction of oxygen received by patient is increased by 10–20 % or more until SpO_2 is getting to be in physiological range.

Studies of desaturation episodes mainly focus on the harmful effects of hypoxia and hypoxia-ischemia [21]. However, the oxygen supply to the central nervous system can reach potentially dangerous levels in the post-hypoxic reperfusion, especially in patients with hyperoxia, which, according to our data, is typical for patients with the most compromised cardio-therapy status [15].

However, according to the results of our research, there were no statistically significant relationship between the PaO_2 and saturation of the arterial blood and $crSO_2$, which is consistent with the observations of C. Hunter [11, 22]. But it is necessary to note that if $SaO_2 > 90$ %, and PaO_2 exceeds 80 mmHg oxyhemoglobin dissociation curve becomes relatively flat and a further increase of PaO_2 has a relatively minor effect on oxygen saturation of the blood. Since study participants had median values of SaO_2 and PaO_2 significantly above the physiologic range, this may partly explain the lack of a statistically significant relationship.

Another one reason for above physiological $crSO_2$ is a low oxygen extraction in the brain, in front of its adequate delivery (severe hypoxic-ischemic encephalopathy, profound anesthesia) [2, 23].

Considering all of the above, if patient on respiratory support has stable cerebral hyperoxia the first step to consider is the lowering oxygen fraction not only in cases when SpO_2 is above physiologic range but when it closer to them. The vasodilation effect of hypercarbia should also be taken into account, so in the case of CO_2 biuld-up with an accompanying cerebral hyperoxia, an increase of minute ventilation is justified as an appropriate step.

Conclusion. No doubt cerebral hypoxia or hyperoxia of newborn could lead to irreversible brain damage [24–26].

Our novel diagnostic and treatment guideline is based on integrated estimation and optimization of brain's oxygen supply and consumption via maintaining proper perfusion pressure, cardiac output, O_2 and CO_2 arterial content in newborns with respiratory distress.

In our research total oxygen consumption of the newborn's brain was not measured directly. Thus, all conclusions about oxygen extraction are based on a reasonable assumption, about a fairly stable O_2 metabolism in the brain.

We determined minor differences of $crSO_2$ and cFTOE in term and late pre-term newborns but physiological determinants of brain's oxygen status were independent of the gestational age [15, 27]. Thus, our approach is applicable to both term and late-term newborns with respiratory disorders in early neonatal period.

It is also important to note that routine manipulations performed in the NICU, such as changes in body position, repositioning or aspiration from the endotracheal tube, withdrawal of blood from umbilical catheters, may adversely affect cerebral hemodynamics and oxygenation [14, 28, 29]. As these changes are usually temporary, they have not been taken into account.

As oxygen status of the brain of a newborn child with respiratory disorders is a continuum and almost all patients have a combination of several reasons for imbalance between oxygen supply and consumption

of oxygen by the brain, selection of separate components in proposed program of stabilization of cerebral oxygen status is highly conditional.

If $crSO_2$ lays out the specified physiological range and intervention is needed we recommend step-by-step approach: only one action at time, then re-evaluation in 30–60 min and another action.

It is very important to have an ECHO available to assess patient's hemodynamics.

Our integral approach to monitoring of oxygen status with dynamic control of regional oxygenation as well as complex of effective interventions allow clinicians to be more effective in management of newborn patients with respiratory disorders.

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

References

1. Sood E. D., Benzaquen, J. S., Davies R. R., Woodford E., Pizarro C. Predictive value of perioperative near-infrared spectroscopy for neurodevelopmental outcomes after cardiac surgery in infancy. *Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*, 2013, vol. 145, no. 2, pp. 438–445e1. https://doi.org/10.1016/j.jtcvs.2012.10.033

2. Sankovets D. N., Gned'ko T. V., Svirskaya O. Ya. Near-infrared spectroscopy (NIRS) – new paint in the neonatologist palette. *Neonatologiya: novosti, mneniya, obuchenie* [Neonatology: news, opinions, training], 2017, no. 1, pp. 58–71 (in Russian).

3. Mintzer J. P., Parvez B., La Gamma E. F. Regional tissue oxygen extraction and severity of anemia in very low birth weight neonates: a pilot NIRS analysis. *American Journal of Perinatology*, 2018, vol. 35, no. 14, pp. 1411–1418. https://doi.org/10.1055/s-0038-1660458

4. Wong F. Y., Barfield C. P., Campbell L., Brodecky V. A., Walker A. M. Validation of cerebral venous oxygenation measured using near-infrared spectroscopy and partial jugular venous occlusion in the newborn lamb. *Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism*, 2008, vol. 28, no. 1, pp. 74–80. https://doi.org/10.1038/sj.jcbfm.9600507

5. Watzman H. M., Kurth C. D., Montenegro L. M., Rome J., Steven J. M., Nicolson S. C. Arterial and venous contributions to near-infrared cerebral oximetry. *Anesthesiology*, 2000, vol. 93, no. 4, pp. 947–953. https://doi.org/10.1097/00000542-200010000-00012

6. Naulaers G., Meyns B., Miserez M., Leunens V., Van Huffel S., Casaer P., Weindling M., Devlieger H. Use of tissue oxygenation index and fractional tissue oxygen extraction as non-invasive parameters for cerebral oxygenation. A validation study in piglets. *Neonatology*, 2007, vol. 92, no. 2, pp. 120–126. https://doi.org/10.1159/000101063

7. Mebius M. J., van der Laan M. E., Verhagen E. A., Roofthooft M. T., Bos A. F., Kooi E. M. Cerebral oxygen saturation during the first 72h after birth in infants diagnosed prenatally with congenital heart disease. *Early Human Development*, 2016, vol. 103, pp. 199–203. https://doi.org/10.1016/j.earlhumdev.2016.10.001

8. Lemmers P. M. A. *The clinical use of near infrared spectroscopy-monitored cerebral oxygen saturation and extraction in the preterm infant. Utrecht University Repository.* 2010. 144 p. Available at: http://dspace.library.uu.nl/handle/1874/40574 (accessed 10 October 2014).

9. Sankovets D. N., Gned'ko T. V., Svirskaya O. Ya. Reference values of abdominal and cerebral oxygenation in term infants: a pilot study. *Reproduktivnoe zdorov'e. Vostochnaya Evropa* [Reproductive health. Eastern Europe], 2018, vol. 8, no. 2, pp. 209–218 (in Russian).

10. Kleinman C. S., Seri I. *Hemodynamics and cardiology: neonatology questions and controversies.* 2nd ed. Philadelphia, Elsevier, 2012. 576 p.

11. Sankovets D. N., Vitushko A. N. Correlation of regional oxygenation with red blood parameters and arterial blood gas in neonates]. *Reproduktivnoe zdorov'e. Vostochnaya Evropa* [Reproductive health. Eastern Europe], 2020, vol. 10, no. 1, pp. 69–82 (in Russian).

12. Sankovets D., Gned'ko T. Use of splanchnic-cerebral oxygenation ratio as noninvasive marker for tissue hypoperfusion [Electronic resource]. *AAP National Conference and Exhibition: abstr., San Francisco, 22–25 Oct. 2016*. Available at: https://www.researchgate.net/publication/341909215_Use_of_Splanchnic-cerebral_Oxygenation_Ratio_as_Noninvasive_Marker_for_Tissue_Hypoperfusion (accessed 28.12.2018).

13. Singh Y. Echocardiographic evaluation of hemodynamics in neonates and children. *Frontiers in Pediatrics*, 2017, vol. 5, art. 201. https://doi.org/10.3389/fped.2017.00201

14. Pellicer A., Gayá F., Madero R., Quero J., Cabañas F. Noninvasive continuous monitoring of the effects of head position on brain hemodynamics in ventilated infants. *Pediatrics*, 2002, vol. 109, no. 3, pp. 434–440. https://doi.org/10.1542/peds.109.3.434

15. Sankovets D. N., Vitushko A. N. Cardiorespiratory status and cerebral oxygenation in neonates with respiratory disorders. *Neonatologiya: novosti, mneniya, obuchenie* [Neonatology: news, opinions, training], 2020, vol. 8, no. 2, pp. 13–20 (in Russian).

16. Sankovets D. N., Gned'ko T. V. Cerebral effects of epinephrine and norepinephrine in newborns with distributive shock. *Materialy IX Vserossiiskogo obrazovatel'nogo kongressa «Anesteziya i reanimatsiya v akusherstve i neonatologii» (Moskva, 23–25 noyabrya 2016 goda)* [Materials of the IX All-Russian Educational Congress "Anesthesia and resuscitation in obstetrics and neonatology" (Moscow, November 23–25, 2016)]. Moscow, 2016, pp. 43–44 (in Russian).

17. Sankovets D. N., Gned'ko T. V. Regional oxygenation in neonates with anemia. *Pediatriya. Vostochnaya Evropa* [Pediatry. Eastern Europe], 2020, vol. 8, no. 2, pp. 184–196 (in Russian).

18. Sankovets D. N., Svirskaya O. Ya., Gned'ko T. V. Effect of exchange blood transfusion on regional oxygenation in newborns with haemolytic disease. *Voprosy prakticheskoi pediatrii* [Questions of practical pediatrics], 2015, vol. 10, no. 1, pp. 75–78 (in Russian).

19. Vanderhaegen J., Naulaers G., Vanhole C., de Smet D., van Huffel S., Vanhaesebrouck S., Devlieger H. The effect of changes in $tPCO_2$ on the fractional tissue oxygen extraction – as measured by near-infrared spectroscopy – in neonates during the first days of life. *European Journal of Paediatric Neurology*, 2009, vol. 13, no. 2, pp. 128–134. https://doi.org/10.1016/j.ejpn.2008.02.012

20. Milan A., Freato F., Vanzo V., Chiandetti L., Zaramella P. Influence of ventilation mode on neonatal cerebral blood flow and volume. *Early Human Development*, 2009, vol. 85, no. 7, pp. 415–419. https://doi.org/10.1016/j.earlhumdev.2009.01.008

21. Baerts W., Lemmers P. M., van Bel F. Cerebral oxygenation and oxygen extraction in the preterm infant during desaturation: effects of increasing FiO(2) to assist recovery. *Neonatology*, 2011, vol. 99, no. 1, pp. 65–72. https://doi.org/10.1159/000302717

22. Hunter C. L., Oei J. L., Lui K., Schindler T. Cerebral oxygenation as measured by near-infrared spectroscopy in neonatal intensive care: correlation with arterial oxygenation. *Acta Paediatrica*, 2017, vol. 106, no. 7, pp. 1073–1078. https://doi.org/10.1111/apa.13848

23. Sankovets D. N. Cerebral oximetry: applications in neonatology. *Pediatriya. Vostochnaya Evropa* [Pediatry. Eastern Europe], 2015, no. 4, pp. 108–117 (in Russian).

24. van Bel F., Lemmers P., Naulaers G. Monitoring neonatal regional cerebral oxygen saturation in clinical practice: value and pitfalls. *Neonatology*, 2008, vol. 94, no. 4, pp. 237–244. https://doi.org/10.1159/000151642

25. Toet M. C., Flinterman A., Laar I., Vries J. W., Bennink G. B., Uiterwaal C. S., Bel F. Cerebral oxygen saturation and electrical brain activity before, during, and up to 36 hours after arterial switch procedure in neonates without pre-existing brain damage: its relationship to neurodevelopmental outcome. *Experimental Brain Research*, 2005, vol. 165, no. 3, pp. 343–350. https://doi.org/10.1007/s00221-005-2300-3

26. Sood E. D., Benzaquen J. S., Davies R. R., Woodford E., Pizarro C. Predictive value of perioperative near-infrared spectroscopy for neurodevelopmental outcomes after cardiac surgery in infancy. *Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*, 2013, vol. 145, no. 2, pp. 438–445e1. https://doi.org/10.1016/j.jtcvs.2012.10.033

27. Sankovets D. N. Differences in regional oxygen status and systemic hemodynamics among term and preterm neonates with respiratory disorders. *Reproduktivnoe zdorov'e. Vostochnaya Evropa* [Reproductive health. Eastern Europe], 2020, vol. 10, no. 3, pp. 357–368 (in Russian).

28. Hüning B. M., Horsch S., Roll C. Blood sampling via umbilical vein catheters decreases cerebral oxygenation and blood volume in preterm infants. *Acta Paediatrica*, 2007, vol. 96, no. 11, pp. 1617–1621. https://doi.org/10.1111/j.1651-2227.2007.00512.x

29. Limperopoulos C., Gauvreau K. K., O'Leary H., Moore M., Bassan H., Eichenwald E. C., Soul J. S., Ringer S. A., Di Salvo D. N., duPlessis A. J. Cerebral hemodynamic changes during intensive care of preterm infants. *Pediatrics*, 2008, vol. 122, no. 5, e1006–e1013. https://doi.org/10.1542/peds.2008-0768

Information about the authors

Dzmitry N. Sankovets – Anesthesiologist-intensivist. Republican Scientific and Practical Center "Mother and Child" (66, Orlovskaya Str., 220053, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: d.sankovec@gmail.com

Tatyana V. Gnedko – Ph. D. (Med.), Associate Professor, Deputy Academic Secretary of the Department of Medical Sciences of the National Academy of Sciences of Belarus (66, Nezavisimosti Ave., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: hnedzko@mail.ru

Andrey M. Vitushka – Ph. D. (Med.), Anesthesiologist-intensivist. Republican Scientific and Practical Center "Mother and Child" (66, Orlovskaya Str., 220053, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: andrej.vitushka@gmail.com

Oksana Ja. Svirskaya – Ph. D. (Med.), Anesthesiologist-intensivist, Head of the Department. Republican Scientific and Practical Center "Mother and Child" (66, Orlovskaya Str., 220053, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: aksana.svirskaya@gmail.com

Информация об авторах

Санковец Дмитрий Николаевич – врач анестезиолог-реаниматолог. Республиканский научно-практический центр «Мать и дитя» (ул. Орловская, 66, 220053, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: d.sankovec@gmail.com

Гнедько Татьяна Васильевна – канд. мед. наук, доцент, заместитель академика-секретаря отделения медицинских наук НАН Беларуси (пр. Независимости, 66, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: hnedzko@mail.ru

Витушко Андрей Николаевич – канд. мед. наук, врач анестезиолог-реаниматолог. Республиканский научно-практический центр «Мать и дитя» (ул. Орловская, 66, 220053, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: andrej.vitushka@gmail.com

Свирская Оксана Яковлевна – канд. мед. наук, заведующий отделением. Республиканский научно-практический центр «Мать и дитя» (ул. Орловская, 66, 220053, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: aksana.svirskaya@gmail.com

ISSN 1814-6023 (Print)
ISSN 2524-2350 (Online)
УДК 616.8-009.863-053.1-07:577.21
https://doi.org/10.29235/1814-6023-2021-18-1-25-35

Поступила в редакцию 08.07.2020
Received 08.07.2020

И. Е. Гурьянова, Ю. С. Жаранкова, Е. А. Полякова, В. В. Пугачева, Е. Я. Скоповец, М. В. Белевцев, О. В. Алейникова

Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии, д. Боровляны, Минский р-н, Республика Беларусь

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА ВРОЖДЕННОГО АНГИОНЕВРОТИЧЕСКОГО ОТЕКА

Аннотация. Врожденный ангионевротический отек (ВАО) – это генетическое заболевание. Согласно современной классификации, выделяют две группы этого отека: ВАО, вызванные функциональным или количественным дефицитом С1 ингибитора (С1-INH-HAE), и ВАО, не зависящие от С1 ингибитора (nC1-INH-HAE). К С1-INH-HAE относятся I и II тип ВАО, на долю которых приходится 99 % от всех ВАО, генетические нарушения локализуются в гене *SERPING1.* Тип nC1-INH-HAE, на долю которого приходится около 1 % от всех ВАО, подразделяется на ВАО вследствие мутации в генах *FXII*, *PLG*, *ANGPT1*, *KNG1* и на ВАО неизвестного происхождения.

Целью данного исследования было провести молекулярно-генетическую диагностику с использованием таргетного секвенирования следующего поколения у пациентов, которым на основании ряда лабораторных тестов и клинической картины отеков был выставлен предположительный диагноз ВАО.

В исследование было включено 24 пациента из 17 семей. Медиана возраста пациентов составила 33,5 года, на момент первых атак – 16 лет. У 15 пациентов в анамнезе значилось наличие отеков у родственников. Пациентам было выполнено высокопроизводительное секвенирование 18 генов.

В результате нашего исследования у 7 пациентов диагноз ВАО был подтвержден выявленными генетическими нарушениями в гене *SERPING1.* У 3 пациентов (члены одной семьи) была обнаружена гетерозиготная замена глубоко в интроне гена *SERPING1*, которая, вероятно, может оказывать влияние на синтез белка в целом; у 2 – нарушения в гене *PLAUR*, которые могут быть ассоциированы с проявлением у них симптомов ВАО неизвестного происхождения; у 6 – нарушения в генах *AGT* и *KNG1*, которые могут коррелировать с наличием у них ранней гипертонии, что и могло спровоцировать появление рецидивирующих отеков.

Ключевые слова: врожденный ангионевротический отек, приобретенный ангионевротический отек, С1 ингибитор, секвенирование по Сенгеру, высокопроизводительное секвенирование

Для цитирования: Молекулярно-генетическая диагностика врожденного ангионевротического отека / И. Е. Гурьянова [и др.] // Вес. Нац. акад. навук Беларусі. Сер. мед. навук. – 2021. – Т. 18, № 1. – С. 25–35. https://doi.org/10.29235/1814-6023-2021-18-1-25-35

Irina E. Guryanova, Yulia S. Zharankova, Ekaterina A. Polyakova, Valeria V. Pugacheva, Katsiaryna Ya. Skapavets, Mikhail V. Belevtsev, Olga V. Aleinikova

Republican Research Center for Pediatric Oncology, Hematology and Immunology, v. Borovliany, Minsk Region, Republic of Belarus

MOLECULAR GENETIC DIAGNOSIS OF HEREDITARY ANGIOEDEMA

Abstract. Hereditary angioedema (HAE) is a rare genetic condition currently subdivided into two groups: HAE due to C1-inhibitor deficiency (Type I) or dysfunction (Type II) (C1-INH-HAE) and HAE with normal activity of C1-INH (nC1-INH-HAE). C1-INH-HAE is estimated to occur in approximately 99 % of cases HAE and is caused by sequence variants in the SERPING1 gene. The prevalence of nC1-INH-HAE is extremely low and accounts for about 1 % of all cases of HAE. nC1-INH-HAE currently subdivided on HAE, due to mutations in factor XII (FXII-HAE), plasminogen (PLG-HAE), angiopoietin 1 (ANGPT1-HAE), kininogen 1 gene (KNG1-HAE), or angioedema of unknown origin (U-HAE).

The amplicons of the entire coding regions and splice-sites of 18 genes from 24 patients (18 female) belonging to 17 families were analyzed by Next Generation Sequencing (NGS). The median age of patients was 33.5, of onset – 16 years. 15 patients had a family history of edema.

We identified seven C1-INH-HAE patients and variants were detected in the SERPING1 gene. For three patients (members of the same family), a heterozygous variant was found deep in the intron of the SERPING1 gene, which is likely to affect protein synthesis. We identified two patients with changes in the PLAUR gene, which may be associated with the manifestation of symptoms angioedema. Six patients showed abnormalities in the genes AGT and KNG1, which can probably explain their early hypertension, which could provoke the appearance of edema.

Keywords: hereditary angioedema, Acquired angioedema, C1 inhibitor, Senger sequencing, next-generation sequencing

For citation: Guryanova I. E., Zharankova Yu. S., Polyakova E. A., Pugacheva V. V., Skapavets K. Ya., Belevtsev M. V., Aleinikova O. V. Molecular genetic diagnosis of hereditary angioedema. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seriya meditsinskikh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2021, vol. 18, no. 1, pp. 25–35 (in Russian). https://doi.org/10.29235/1814-6023-2021-18-1-25-35

Введение. Ангионевротический отек – это состояние, при котором происходит выход жидкости из сосудистого русла в мягкие ткани (подслизистые ткани, подкожно-жировую клетчатку) [1] из-за временного повышения проницаемости сосудистой стенки, вызванного высвобождением вазоактивных медиаторов и локальным накоплением воспалительных соединений.

На сегодняшний день известно, как минимум, четыре различных медиатора, которые могут быть причиной ангионевротических отеков: гистамин, брадикинин, субстанция Р и лейкотриены. Гистамин и брадикинин являются наиболее подробно описанными в литературе медиаторами ангионевротического отека.

Гистамин-опосредованные отеки встречаются у 20 % населения мира [2]. Такие отеки обычно быстро развиваются и, как правило, связаны с аллергическими реакциями и крапивницей. Несмотря на то что при гистамин-опосредованных отеках общей эффекторной клеткой является тучная клетка, агонисты тучной клетки разнообразны и охватывают адаптивный и врожденный иммунитет [3]. Основная передача сигналов через рецептор FcεR1 происходит путем сшивания с иммуноглобулином Е (IgE). Но помимо IgE в формировании отека могут также участвовать аутоантитела к FcεR1, аутоантитела к IgE или супераллергены (например, белок Fv или различные микробные пептиды, способные к антиген-независимому сшиванию IgE). Также существуют не-FcεR1 механизмы для образования поперечных межмолекулярных связей с тучными клетками, активация которых может привести к формированию ангионевротического отека или крапивницы. К ним относятся G-белок-связанные рецепторы, рецепторы C3a и C5a и N-формил пептидные рецепторы (FPR) [4]. Толл-подобные рецепторы (TLR) также экспрессируются на тучных клетках и могут служить не-FcεR1 механизмами активации тучных клеток.

Брадикинин-опосредованные отеки встречаются гораздо реже гистамин-опосредованных (соотношение примерно 1 к 50 000 [2]), однако являются причиной непропорционально большого процента серьезных состояний у пациентов и смертности вследствие отека. Брадикинин-опосредованные отеки делятся на врожденные и приобретенные.

Брадикинин-опосредованные приобретенные ангионевротические отеки (ПАО) включают: IH–AAE – идиопатический гистаминергический ПАО; InH–AAE – идиопатический негистаминергический ПАО; ACEi–AAE – ПАО, вызванный применением ингибиторов ангиотензинпревращающего фермента (иАПФ); C1–INH–AAE – ПАО со снижением количества C1 ингибитора) [5]. ACEi–AAE возникает у ≈0,5 % пациентов, принимающих препараты иАПФ, однако даже прекращение применения иАПФ может быть эффективно приблизительно в половине случаев [6]. Предполагается, что такие пациенты имеют скрытые InH–AAE, которые активируются под действием иАПФ [5]. В медицинской практике встречается также первичная артериальная гипертония, которая обусловлена генетическими нарушениями в различных генах, которые изменяют функцию одной или нескольких систем, принимающих участие в регуляции артериального давления, что приводит к установлению давления крови на более высоком уровне уже в раннем возрасте.

Врожденный ангионевротический отек (ВАО) – это генетическое заболевание. Согласно современной классификации [7], выделяют две группы этого отека: ВАО, вызванные функциональным или количественным дефицитом C1 ингибитора (C1-INH-HAE), и ВАО, не зависящие от C1 ингибитора (nC1-INH-HAE).

C1 ингибитор – это регуляторный белок, функцией которого является ингибирование различных сериновых протеаз систем комплемента, кинин-калликреиновой системы, каскада свертывания и фибринолиза [8]. C1 ингибитор играет ключевую роль в контроле классического и лектинового путей комплемента. Активация комплемента инициируется молекулами распознавания C1q и маннозо-связывающим лектином (MBL), которые обычно распознают комплексы антиген–антитело или чужеродные полисахариды соответственно. Связанные протеазы (C1r, C1s, MASP-1 и MASP-2) затем активируют систему комплемента. Кроме того, C1 ингибитор является основным

регулятором активированного фактора свертывания крови XII и калликреина плазмы и ограничивает образование вазоактивного пептида брадикинина [9, 10].

Снижение функциональной активности С1 ингибитора может привести к неконтролируемой активации контактной системы на поверхности эндотелиальных клеток с высвобождением брадикинина. Последний активирует брадикинин В2 рецептор, вызывая расширение сосудов, повышение их проницаемости и утечку плазмы во внеклеточное пространство, что и приводит к образованию отека. Произведенный брадикинин активен только в течение короткого времени, потому что в организме присутствуют кининазы, такие как эндопептидаза Н, дипептидилпептидаза IV, аминопептидазы Р1 и Р2, ангиотензин-превращающий фермент, которые расщепляют брадикинин до неактивных пептидов [11]. Однако взаимодействия брадикинина и брадикинин В2 рецептора могут вызывать также экспрессию рецептора брадикинина В1 [12], который, в отличие от рецептора брадикинина В2, частично медленно десенсибилизируется после связывания с его агонистом, что объясняет достаточно длительную продолжительность отеков [13].

К C1-INH-HAE относятся I и II тип ВАО, на долю которых приходится 99 % от всех ВАО. В основе I и II типа лежат мутации в гене, кодирующем С1 ингибитор (*SERPING1*, OMIM #606860). Тип I ВАО является количественным дефицитом С1 ингибитора (≈85 %), тип II – функциональным дефицитом С1 ингибитора (≈15 %). Уровень компонента системы комплемента С4 снижен приблизительно на 50 % от нижнего значения нормы для I и II типа, в то время как уровень С3 в большинстве случаев остается в норме [14]. Поскольку ВАО является генетическим заболеванием, то семейный анамнез, как правило, будет отягощен. Однако для гена *SERPING1* характерны спонтанные генетические изменения, и в 25 % случаев мутации в этом гене будут *de novo*, т. е. семейный анамнез отягощен не будет.

C1-INH-HAE проявляется в виде рецидивирующих острых приступов отеков слизистой оболочки. Они поражают любые участки тела и могут продолжаться в течение нескольких дней. Наиболее опасными являются отеки верхних дыхательных путей, которые могут привести к удушью и смерти, если вовремя не применить адекватную терапию [14]. Дебют заболевания обычно возникает в детстве, а частота приступов часто увеличивается в период полового созревания. Ко второму десятилетию жизни у большинства пациентов симптомы ВАО, как правило, уже проявляются [15]. Клиническая манифестация симптомов C1-INH-HAE среди пациентов разнородна, с диапазоном, варьирующимся от бессимптомных случаев до случаев с еженедельными тяжелыми и угрожающими жизни пациентов приступами [16, 17].

В настоящее время для купирования острых приступов C1-INH-HAE существуют такие препараты, как свежезамороженная плазма, два препарата нативного С1 ингибитора (Berinert®, Cinryze®), один препарат с рекомбинантным С1 ингибитором (Ruconest®), антагонист рецепторов брадикинина Icatibant (Firazyr®) и ингибитор белка калликреина Ecallantide (Kalbitor ®) [18]. Клинические руководства рекомендуют применять адекватную терапию в начале каждого приступа, что значительно снижает продолжительность приступов и риск смерти от асфиксии. Для долгосрочной профилактики применяют аттенуированные андрогены, подкожное введение полученного из плазмы С1 ингибитора [19] или моноклональных антител к калликреину Lanadelumab (Takhzyro®) [20].

На долю nC1-INH-HAE приходится около 1 % от всех ВАО. На сегодняшний день nC1-INH-HAE подразделяется на ВАО вследствие мутации в генах, кодирующих фактор свертывания крови XII (*FXII*, FXII-HAE, 2000 [21]), плазминоген (*PLG*, PLG-HAE, 2018 [22]), ангиопоэтин-1 (*ANGPT1*, ANGPT1-HAE, 2014 [23]), кининоген-1 (*KNG1*, KNG1-HAE, 2019 [24]), и на ВАО неизвестного происхождения [5]. 70–75 % случаев nC1-INH-HAE составляют именно пациенты с ВАО неизвестного происхождения, т. е. те пациенты, для которых не было найдено генетического нарушения среди ассоциированных в настоящий момент с ВАО, не зависящих от С1 ингибитора. Уровни С1 ингибитора и С4 остаются в норме, однако было отмечено [25], что у пациентов с мутацией в гене *FXII* во время приступа отека наблюдается снижение уровня С1 ингибитора. Для nC1-INH-HAE характерно наличие отягощенного семейного анамнеза, первые симптомы, как правило, возникают в возрасте 20–30 лет [5]. nC1-INH-HAE имеет сходный клинический фенотип с C1-INH-HAE: рецидивирующие отеки поверхностных слоев кожи, приступы болей в животе, опухание языка,

отеки верхних дыхательных путей. Обычно отеки длятся 2–5 дней и затрагивают главным образом конечности и лицо [5]. Исходя из предполагаемой патофизиологии, применяют несколько возможных вариантов лечения nC1-INH-HAE. Это препараты, содержащие С1 ингибитор, прогестерон, даназол и транексамовую кислоту.

Механизмы формирования отека при ВАО, не зависящего от С1 ингибитора (nC1-INH-HAE) в литературе охарактеризованы не так хорошо, как механизмы возникновения отека ввиду дефицита С1 ингибитора. Механизмы классифицированы на подтипы в соответствии с генетической поломкой. Поскольку самым первым подтипом nC1-INH-HAE был выделен FXII-HAE, то механизм формирования отека ввиду мутаций в гене, кодирующем фактор свертывания крови XII, наиболее изучен. На мышиных моделях *in vivo* и *in vitr*о было доказано, что мутации p.Thr309Lys (T309K) и p.Thr309Arg (T309R) повышают восприимчивость аутоактивации профермента FXII, что приводит к чрезмерной активации и образованию брадикинина через кинин-калликреиновую систему [26]. Кроме того, эти мутации приводят к ускоренной активации фактора свертывания крови XII плазмином.

Механизмы, лежащие в основе отека при ВАО, не зависящего от С1 ингибитора ввиду генетических нарушений в генах, кодирующих ангиопоэтин-1, плазминоген и кининоген-1, на данный момент не подтверждены. Однако доказано, что мутация в гене *ANGPT1* p.Ala119Ser, ассоциированная с ANGPT1-HAE, препятствует мультимерной агрегации белка. Именно мультимерное строение белка ангиопоэтина-1 необходимо для блокировки тирозин-протеинкиназного рецептора (TIE2), который регулирует проницаемость сосудов, индуцированную медиаторами воспаления [23].

Описание nC1-INH-HAE в литературе привело к изучению новой области исследования генетической основы ВАО по отношению к рецепторам брадикинина и ферментам, которые действуют на фибринолиз и систему комплемента. Большая часть недавних исследований сфокусирована на полиморфизмах в генах, а не на потенциально патогенных изменениях аминокислот ввиду генетических нарушений [1].

Диагностика наследственных заболеваний на клиническом уровне крайне сложна вследствие их выраженной генетической гетерогенности и клинического полиморфизма. В эру высокопроизводительного секвенирования выявление генов, изменения в которых могут привести к формированию ангионевротического отека, стало быстрее и дешевле. И чем больше мы анализируем результаты секвенирования ДНК пациентов с предположительным ВАО, тем больше понимаем, как генетический анализ может помочь в постановке правильного диагноза, назначении адекватной терапии и улучшении качества жизни пациентов.

Цель исследования – провести молекулярно-генетическую диагностику с использованием таргетного секвенирования следующего поколения у пациентов, которым на основании ряда лабораторных тестов и клинической картины отеков был выставлен предположительный диагноз ВАО.

Материалы и методы исследования. В молекулярно-генетическое исследование было включено 24 пациента из 17 семей, в анамнезе которых встречались отеки, схожие с ВАО по клинической картине и результатам лабораторных тестов (измерение количества уровней С3, С4, С1 ингибитора, определение расщепленного высокомолекулярного кининогена, общего уровня IgE и антител к С1 ингибитору).

Информированное согласие было получено у всех пациентов и/или их официальных опекунов. Для молекулярно-генетического исследования использовали периферическую кровь с антикоагулянтом К2 ЭДТА. ДНК выделяли из 200 мкл крови с использованием набора реагентов GeneJET Whole Blood Genomic DNA Purification Mini Kit (Thermo Scientific, США).

С выделенной ДНК проводили серию ПЦР для амплификации 211 фрагментов, включающих все экзоны и прилегающие к ним сплайс-сайты для 18 генов (*AGT*, *ANGPT1*, *BDKRB1*, *SERPING1*, *CPM*, *CPN1*, *FXII*, *KLKB1*, *KNG1*, *MME*, *PLG*, *PRCP*, *TAC1*, *BDKRB2*, *ENPEP*, *KLK1*, *NOS3*, *PLAUR*), наличие специфического продукта и отсутствие контаминации проверяли с помощью электрофореза в 1,5 %-ном агарозном геле. Полученные 211 апликонов для каждого пациента смешивали таким образом, чтобы в конечной смеси все ампликоны находились в равном соотношении в зависимости от их концентрации и длины амплифицируемого фрагмента. Далее для каждого пациента выполняли очистку смеси ПЦР-продуктов от примесей, неспецифических продуктов

и праймер-димеров с использованием набора реагентов PureLink PCR Purification Kit (Life Technologies, США). Количественную оценку полученной смеси с последующим ее разведением до необходимой концентрации выполняли на флуориметре Qubit 3.0 (Life Technologies, США). Приготовление библиотеки для высокопроизводительного секвенирования выполняли с использованием набора реагентов Nextera XT (Illumina, США). Высокопроизводительное секвенирование осуществляли на генетическом анализаторе MiSeq (Illumina, США). Все клинически значимые изменения подтверждали с помощью капиллярного секвенирования по Сенгеру на генетическом анализаторе 3500 Applied Biosystems (Thermo Scientific, США).

Полученные по результатам секвенирования нуклеотидные последовательности пациента сравнивали с референсными [27]. Результаты высокопроизводительного секвенирования анализировали, используя облачный интерфейс BaseSpace (Illumina, США). При капиллярном секвенировании анализ проводили при помощи специализированного программного обеспечения Sequencing Analysis 5.2 (Applied Biosystems, США) и BioEdit (Bioedit Ltd, США). Выявленные однонуклеотидные отличия анализировали с применением онлайн-программ предсказания патогенности PolyPhen2 и Variant Effect Predictor.

Результаты и их обсуждение. В исследование было включено 24 пациента (18 лиц женского пола и 6 – мужского) из 17 семей, в анамнезе которых встречались отеки, по клинической картине схожие с ВАО. Из 24 пациентов 17 были в возрасте 18 лет и старше, 7 – в возрасте до 18 лет. Возраст пациентов, взятых в исследование, находился в диапазоне от 2 до 65 лет (медиана составила 33,5 года). У 15 пациентов в анамнезе значилось наличие отеков у родственников, у 22 пациентов на момент выполнения исследования уже манифестировали отеки, 2 пациента были взяты в исследование без клинической манифестации отеков, но из семей, в которых как минимум 3 родственника страдали от рецидивирующих отеков. Возраст на момент первых атак находился в диапазоне от 1 года до 45 лет (медиана составила 16 лет) (табл. 1).

Таблица 1. **Клинические данные пациентов и результаты высокопроизводительного секвенирования**

Table 1. **Patient clinical data and next generation sequencing results**

Порядковый номер пациента	Пол	Наличие семейной истории	Возраст, лет		Подтверждение ВАО
			на момент проведения исследования	на момент первых атак	
1	Ж	Да	61	10	Да
2	Ж	Да	10	9	Да
3	Ж	Да	39	10	Да
4	М	Да	17	Не было	Да
5	Ж	Да	28	24	Нет
6	Ж	Да	2	Не было	Нет
7	М	Да	5	5	Нет
8	Ж	Да	53	21	Нет
9	Ж	Нет	58	41	Нет
10	М	Нет	14	13	Да
11	Ж	Нет	27	16	Нет
12	М	Нет	10	8	Нет
13	Ж	Да	35	16	Да
14	Ж	Да	65	22	Да
15	Ж	Да	45	22	Нет
16	Ж	Нет	53	45	U-HAE
17	Ж	Да	44	6	Нет
18	Ж	Нет	32	15	Нет
19	Ж	Нет	18	16	Нет
20	Ж	Да	32	23	Нет
21	Ж	Да	51	22	U-HAE
22	М	Нет	36	21	Нет
23	Ж	Нет	43	36	Нет
24	М	Да	5	1	Нет

Примечание. U-HAE – пациенты с ВАО неизвестного происхождения.

Всем пациентам были выполнены ПЦР-реакции для амплификации 211 фрагментов, включая все экзоны и прилегающие к ним сплайс-сайты для 18 генов: *AGT*, *ANGPT1*, *BDKRB1*, *SERPING1*, *CPM*, *CPN1*, *FXII*, *KLKB1*, *KNG1*, *MME*, *PLG*, *PRCP*, *TAC1*, *BDKRB2*, *ENPEP*, *KLK1*, *NOS3*, *PLAUR* (общее количество ампликонов составило 5064). С помощью современных технологий ДНК одновременно фрагментируется и маркируется адаптерами для секвенирования в одной пробирке с ферментативной реакцией. В ходе исследования наличие всех клинически значимых замен, выявленных с помощью высокопроизводительного секвенирования, было подтверждено путем капиллярного секвенирования по Сенгеру. Ошибок при биоинформационном анализе не выявлено. Схема формирования, взаимодействия и диссимиляции брадикинина при ангионевротическом отеке показана на рисунке.

В ходе исследования среди 24 пациентов с клинической картиной ВАО и с результатами лабораторных тестов, схожими с показателями при ВАО, только для 7 диагноз ВАО был генетически подтвержден (табл. 1). Причем для пациента № 4 диагноз был поставлен еще на досимптомной стадии. Кроме того, для пациентов № 16 и № 21 были выявлены гомозиготные замены в гене *PLAUR* (c.935 T>C, p.Leu 312 Pro, rs 4760 и c. 659 A>G, p. Lys 220 Arg, rs 2302524 соответственно), которые могут быть ассоциированы с проявлением у них симптомов ВАО неизвестного происхождения. У пациентов № 18, 20 и 24 была выявлена гомозиготная замена в гене *AGT* (c. 620 C>T, p. Thr 207 Met, rs 4762), у пациентов № 8 и № 9 – гетерозиготный компаунд (c.1290 C>G, p.Asp 430 Glu, rs 5030084; c. 1925 G>C, p.Gly 642 Ala, rs 5030087), у пациента № 12 – гомозиготная замена (c. 591 T>G, p.Ile 197 Met, rs 2304456) в гене *KNG1*, которые могут быть причиной формирования у них ранней гипертонии, вследствие которой они с 20–30-летнего возраста начали принимать иАПФ, что и могло спровоцировать появление рецидивирующих отеков.

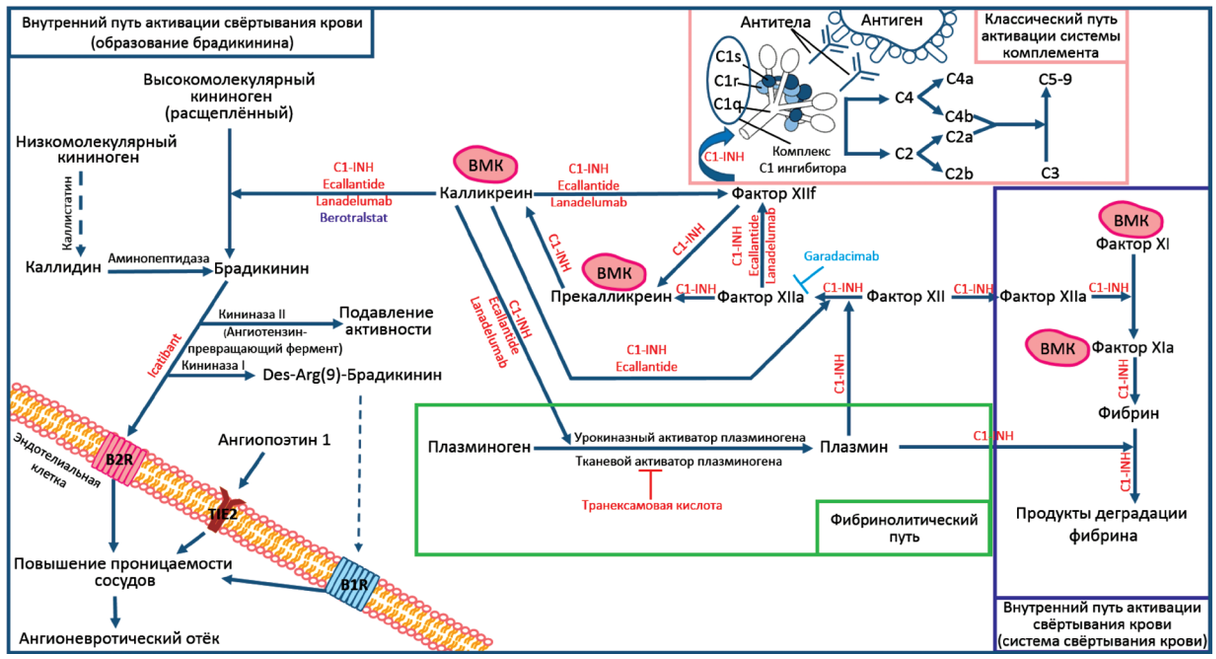


Схема взаимодействий компонентов систем комплемента, кинин-калликреиновой системы, каскада свертывания и фибринолиза в формировании ангионевротического отека с указанием мишеней воздействия существующей терапии. TIE-2 – тирозин-протеинкиназный рецептор, B2R – рецептор брадикинина B2, B1R – рецептор брадикинина B1, ВМК – высокомолекулярный кининоген. Механизмы действия лекарственных средств, которые в настоящее время одобрены для лечения ВАО, показаны красным; фиолетовым – препарат, прошедший все стадии клинических испытаний и находящийся на рассмотрении в FDA; голубым – препарат, клинические испытания которого находятся на завершающей стадии

Scheme of components interactions of complement systems, kallikrein-kinin system, coagulation system and fibrinolytic pathway in hereditary angioedema and targets of available therapy. TIE-2 – the tyrosine-protein kinase receptor, B2R – the bradykinin B2 receptor, B1R – the bradykinin B1 receptor, and HMWK – the high molecular weight kininogen. Targets for available therapy, that are currently approved for the treatment of HAE are shown in red; purple – passed all stages of clinical trials and now in FDA approval process; blue – the clinical trials are in the final stages

Ген *PLAUR* кодирует рецептор активации плазминогена, а ген *KNG1* кодирует высокомолекулярный кининоген. Высокомолекулярный кининоген является циркулирующим в плазме белком кинин-калликреиновой системы, играющим роль в воспалении (в том числе в генерации сосудорасширяющего брадикинина), контролировании артериального давления, коагуляции и возникновении болевых ощущений. Высокомолекулярный кининоген является одним из четырех белков (остальные три – фактор XII, фактор XI и прекалликреин), которые, взаимодействуя, запускают внутренний путь активации свертывания крови [28]. Высокомолекулярный кининоген ферментативно не активен и функционирует только в качестве кофактора для активации калликреина, фактора XI и фактора XIIa, а также является предшественником брадикинина.

Ген *AGT* кодирует ангиотензин (вещество, повышающее тонус сосудов). В лабораторной практике данный ген исследуется для выявления генетической предрасположенности к гипертонии, ишемической болезни сердца, эклампсии, преэклампсии во время беременности.

В ходе исследования была проведена диагностика семьи (пациенты № 5, 6, 7 и 8), у членов которой имели место рецидивирующие отеки различной локализации. Рассмотрим подробнее. В консультативно-поликлиническое отделение Центра детской онкологии, гематологии и иммунологии обратилась мама 5-летнего мальчика (пробанд – пациент № 7) с жалобами на повторяющиеся у ребенка отеки век и ушей. Также дважды в анамнезе упоминались острые боли в животе, по поводу которых ребенок госпитализировался в хирургический стационар. Со слов мамы, отеки хорошо купировались после приема одной стандартной терапевтической дозы антигистаминного препарата. При сборе наследственного анамнеза было установлено, что и у мамы (пациент № 5), и у бабушки по материнской линии (пациент № 8) также имеются повторяющиеся отеки. У бабушки в возрасте 20 лет была диагностирована гипертония, и она начала принимать иАПФ на постоянной основе, а в анамнезе неоднократно зафиксированы отеки тыльной поверхности рук и ног. У мамы пробанда в возрасте 24 лет впервые на фоне острой крапивницы развился отек гортани, который сопровождался затрудненным дыханием. После отека гортани у пациентки случались отеки носа, век, губ, тыльной поверхности стоп и кистей с периодичностью 1–2 раза в месяц. Отеки были болезненными, сопровождались головной болью, болями в животе и рвотой. С ее слов, улучшение отмечалось после введения глюкокортикостероидов (преднизолона), но клиническое улучшение наступало не всегда. По результатам лабораторных тестов и клиническому ответу на проводимую терапию, до молекулярно-генетического исследования у матери был предположен диагноз IH-AAE, у бабушки – ACEi-AAE. У двухлетней сестры (пациент № 6) пробанда не было проявления ангионевротического отека, но ввиду малого возраста было принято решение также включить ее в исследование. Результаты лабораторных исследований представлены в табл. 2.

Т а б л и ц а 2. **Результаты лабораторных исследований пациентов № 5, 6, 7 и 8**

T a b l e 2. **Laboratory test results for patients no. 5, 6, 7 and 8**

Порядковый номер пациента	Родственные связи	Возраст, лет		Предположительный диагноз	C3	C4	C1	IgE	C1 функ., %	cHK, %	SERPING1	KNG1
		на момент проведения исследования	на момент первых атак									
№ 7	Пробанд	5	5	Аллергический отек	=	=	=	↑ в 4 раза	NA	65,3	wt	wt
№ 5	Мама	28	24	IH-AAE	=	=	=	=	<20	100,0	Het. rs 192076424	wt
№ 8	Бабушка	53	21	ACEi-AAE	=	=	=	NA	<20	100,0	Het. rs 192076424	Het. rs 5030084 // Het. rs 5030087
№ 6	Сестра	2	Не было		=	=	=	=	NA	NA	Het. rs 192076424	wt

П р и м е ч а н и е. NA – отсутствовал материал, необходимый для выполнения теста.

У всех 4 пациентов уровни С3, С4 компонентов системы комплемента и С1 ингибитора были в пределах нормы, уровень иммуноглобулина Е (IgE) у пациента № 7 был в 4 раза выше возрастной нормы, а у пациентов № 5 и № 6 оставался в пределах нормальных значений. Тесты на определение процента расщепленного высокомолекулярного кининогена (сНК) и процента функциональной активности С1 ингибитора для пациентов № 5 и № 8 показали результаты, сопоставимые с показателями при ВАО. Для пациента № 7 процент расщепленного высокомолекулярного кининогена был отличным от его количества, встречающегося при ВАО.

В результате высокопроизводительного секвенирования 18 генов для пациентов № 5, 6 и 8 в кодирующих регионах гена *SERPING1* отличий от референсной последовательности не было выявлено, но была обнаружена гетерозиготная замена глубоко в интроне с. 1029+689 T>C, rs 192076424. Данная замена крайне редко встречается в популяции (gAD: ALL – 0,0096 %; EUR – 0,0000; TopMed – 0,0087 %), но тем не менее была детектирована у двух симптомных членов одной семьи и у одного бессимптомного двухлетнего ребенка. У пациента № 7, у которого результаты всех лабораторных тестов и клинический ответ на терапию свидетельствовали в пользу аллергической природы отеков, данной замены глубоко в интроне выявлено не было. В онлайн-программе Predictsnp предиктор патогенности данной замены указывает на возможное наличие патогенного эффекта, который может оказывать эта интронная замена на синтез белка в целом. Как отмечалось ранее, у пациента № 8 в гене *KNG1* был выявлен гетерозиготный компаунд, чем, вероятно, и объясняется ранняя гипертония.

Заключение. Таким образом, среди 24 пациентов с отеками, схожими по клинической картине и результатам лабораторных тестов с показателями при ВАО, у 7 был генетически подтвержден ВАО; у 3 пациентов в кодирующих регионах гена *SERPING1* отличий от референсной последовательности не было выявлено, но было обнаружено нарушение глубоко в интроне, которое, вероятно, может оказывать влияние на синтез белка в целом; у 2 пациентов были выявлены гомозиготные замены в гене *PLAUR*, которые могут быть ассоциированы с проявлением у них симптомов ВАО неизвестного происхождения; у 3 – гомозиготная замена в гене *AGT*, у 2 – гетерозиготный компаунд и у 1 – гомозиготная замена в гене *KNG1*, которые могут коррелировать с наличием у них ранней гипертонии, что и могло спровоцировать появление рецидивирующих отеков. Наличие всех выявленных с помощью высокопроизводительного секвенирования замен было подтверждено капиллярным секвенированием. Ошибок при бионформационном анализе не выявлено.

Суммируя вышеизложенное, ВАО часто плохо распознается врачами из-за его неспецифических признаков и симптомов. Клиническая картина, а также результаты лабораторных исследований могут быть смешанными и неоднозначными. Поэтому в протоколы диагностики необходимо включать молекулярно-генетический анализ, чтобы подтвердить или опровергнуть наличие у пациента ВАО. Последствия поздней диагностики ВАО могут быть крайне опасны, поскольку при первой атаке применение адекватной терапии зачастую происходит не сразу, что повышает риск развития более тяжелой формы отека, которая впоследствии может привести к смерти.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Благодарности. Работа выполнена при финансовой поддержке ГНТП «Фундаментальные и прикладные науки – медицине, 2016–2020 годы» (подпрограмма «Диагностика и терапия заболеваний») (№ госрегистрации 20190517).

Acknowledgements. This work was supported by SSTP "Fundamental and Applied Sciences – Medicine, 2016–2020" (subprogram "Diagnosis and Treatment of Diseases") (state registration number 20190517).

Список использованных источников

1. Piñero-Saavedra, M. The genetics of hereditary angioedema: a review / M. Piñero-Saavedra, T. J. Ganzalez-Quevedo // Rare Dis. Res. Treat. – 2017. – Vol. 2, N 4. – P. 14–19.

2. Presentation, diagnosis and treatment of angioedema without wheals: a retrospective analysis of a cohort of 1058 patients / M. Mansi [et al.] // J. Int. Med. – 2015. – Vol. 277, N 5. – P. 585–593. https://doi.org/10.1111/joim.12304

3. The EAACI/GA LEN/EDF/WAO Guideline for the definition, classification, diagnosis, and management of urticaria: the 2017 revision and update / T. Zuberbier [et al.] // Allergy. – 2018. – Vol. 73, N 7. – P. 1393–1414. https://doi.org/10.1111/all.13397

4. Huston, D. P. Decoding the enigma of urticaria and angioedema / D. P. Huston, V. Sabato // J. Allergy Clin. Immunol. Pract. – 2018. – Vol. 6, N 4. – P. 1171–1175. https://doi.org/10.1016/j.jaip.2018.06.001

5. Classification, diagnosis, and approach to treatment for angioedema: consensus report from the Hereditary Angioedema International Working Group / M. Cicardi [et al.] // Allergy. – 2014. – Vol. 69, N 5. – P. 602–616. https://doi.org/10.1111/all.12380

6. Long-term follow-up of 111 patients with angiotensinconverting enzyme inhibitor-related angioedema / L. Beltrami [et al.] // J. Hypertens. – 2011. – Vol. 29, N 11. – P. 2273–2277. https://doi.org/10.1097/HJH.0b013e32834b4b9b

7. Maas, C. Hereditary angioedema: insights into inflammation and allergy / C. Maas, A. López-Lera // Mol. Immunol. – 2019. – Vol. 112. – P. 378–386. https://doi.org/10.1016/j.molimm.2019.06.017

8. Local bradykinin generation in hereditary angioedema / J. Nussberger [et al.] //J. Allergy Clin. Immunol. – 1999. – Vol. 104, N 6. – P. 1321–1322. https://doi.org/10.1016/s0091-6749(99)70030-8

9. Bradykinin and the pathophysiology of angioedema / M. Cugno [et al.] // Int. Immunopharmacol. – 2003. – Vol. 3, N 3. – P. 311–317. https://doi.org/10.1016/S1567-5769(02)00162-5

10. Davis 3rd A. E. Biological activities of C1 inhibitor / A. E. Davis 3rd, P. Mejia, F. Lu // Mol. Immunol. – 2008. – Vol. 45, N 16. – P. 4057–4063. https://doi.org/10.1016/j.molimm.2008.06.028

11. Kaplan, A. P. Kinin formation in C1 inhibitor deficiency / A. P. Kaplan, K. Joseph // J. Allergy Clin. Immunol. – 2010. – Vol. 125, N 6. – P. 1411–1412. https://doi.org/10.1016/j.jaci.2010.02.036

12. Zuraw, B. L. HAE pathophysiology and underlying mechanisms / B. L. Zuraw, S. C. Christiansen // Clin. Rev. Allergy Immunol. – 2016. – Vol. 51, N 2. – P. 216–229. https://doi.org/10.1007/s12016-016-8561-8

13. Novel pathogenic mechanism and therapeutic approaches to angioedema associated with C1 inhibitor deficiency / F. Bossi [et al.] // J. Allergy Clin. Immunol. – 2009. – Vol. 124, N 6. – P. 1303–1310e4. https://doi.org/10.1016/j.jaci.2009.08.007

14. Hereditary and acquired angioedema: problems and progress: proceedings of the third C1 esterase inhibitor deficiency workshop and beyond / A. Agostoni [et al.] // J. Allergy Clin. Immunol. – 2004. – Vol. 114, N 3 (Suppl.). – P. S51–S131. https://doi.org/10.1016/j.jaci.2004.06.047

15. Hereditary angioedema with C1 inhibitor deficiency: delay in diagnosis in Europe / A. Zanichelli [et al.] // Allergy Asthma Clin. Immunol. – 2013. – Vol. 9. – Art. 29. https://doi.org/10.1186/1710-1492-9-29

16. Zuraw, B. L. Clinical practice. Hereditary angioedema / B. L. Zuraw // N. Engl. J. Med. – 2008. – Vol. 359, N 10. – P. 1027–1036. https://doi.org/10.1056/NEJMcp0803977

17. Longhurst, H. Hereditary angio-edema / H. Longhurst, M. Cicardi // Lancet. – 2012. – Vol. 379, N 9814. – P. 474–481. https://doi.org/10.1016/S0140-6736(11)60935-5

18. Evidence-based recommendations for the therapeutic management of angioedema owing to hereditary C1 inhibitor deficiency: consensus report of an International Working Group / M. Cicardi [et al.] // Allergy. – 2012. – Vol. 67, N 2. – P. 147–157. https://doi.org/10.1111/j.1398-9995.2011.02751.x

19. Sabharwal, G. Recombinant human C1 esterase inhibitor for the treatment of hereditary angioedema due to C1 inhibitor deficiency (C1-INH-HAE) / G. Sabharwal, T. Craig // Expert Rev. Clin. Immunol. – 2015. – Vol. 11, N 3. – P. 319–327. https://doi.org/10.1586/1744666x.2015.1012502

20. Effect of lanadelumab compared with placebo on prevention of hereditary angioedema attacks: a randomized clinical trial / A. Banerji [et al.] // JAMA. – 2018. – Vol. 320, N 20. – P. 2108–2121. https://doi.org/10.1001/jama.2018.16773

21. Hereditary angioedema with normal C1-inhibitor activity in women / K. Bork [et al.] // Lancet. – 2000. – Vol. 356, N 9225. – P. 213–217. https://doi.org/10.1016/s0140-6736(00)02483-1

22. Hereditary angioedema with a mutation in the plasminogen gene / K. Bork [et al.] // Allergy. – 2018. – Vol. 73, N 2. – P. 442–450. https://doi.org/10.1111/all.13270

23. Mutation of the angiopoietin-1 gene (ANGPT1) associates with a new type of hereditary angioedema / V. Bafunno [et al.] // J. Allergy Clin. Immunol. – 2018. – Vol. 141, N 3. – P. 1009–1017. https://doi.org/10.1016/j.jaci.2017.05.020

24. Hereditary angioedema cosegregating with a novel kininogen1 gene mutation changing the N-terminal cleavage site of bradykinin / K. Bork [et al.] // Allergy. – 2019. – Vol. 74, N 12. – P. 2479–2481. https://doi.org/10.1111/all.13869

25. Type III hereditary angio-oedema: clinical and biological features in a French cohort / V. Vitrat-Hincky [et al.] // Allergy. – 2010. – Vol. 65, N 10. – P. 1331–1336. https://doi.org/10.1111/j.1398-9995.2010.02368.x

26. Defective glycosylation of coagulation factor XII underlies hereditary angioedema type III / J. Björkqvist [et al.] // J. Clin. Invest. – 2015. – Vol. 125, N 8. – P. 3132–3146. https://doi.org/10.1172/jci77139

27. Ensembl genome browser 95 [Electronic resource]. – Mode of access: http://www.ensembl.org/index.html. – Date of access: 13.01.2020.

28. GeneCards The Human Gene Databace [Electronic resource]. – Mode of access: https://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=KNG1. – Date of access: 01.07.2020.

References

1. Piñero-Saavedra M., Ganzalez-Quevedo T. J. The genetics of hereditary angioedema: a review. *Journal of Rare Diseases Research and Treatment*, 2017, vol. 2, no. 4, pp. 14–19.

2. Mansi M., Zanichelli A., Coerezza A., Suffritti C., Wu M. A., Vacchini R., Stieber C., Cichon S., Cicardi M. Presentation, diagnosis and treatment of angioedema without wheals: a retrospective analysis of a cohort of 1058 patients. *Journal of Internal Medicine*, 2015, vol. 277, no. 5, pp. 585–593. https://doi.org/10.1111/joim.12304

3. Zuberbier T., Aberer W., Asero R., Latiff A. H. A., Baker D., Ballmer-Weber B. [et al.]. The EAACI/GA LEN/EDF/WAO Guideline for the definition, classification, diagnosis, and management of urticaria: the 2017 revision and update. *Allergy*, 2018, vol. 73, no. 7, pp. 1393–1414. https://doi.org/10.1111/all.13397

4. Huston D. P., Sabato V. Decoding the enigma of urticaria and angioedema. *Journal of Allergy and Clinical Immunology: In Practice*, 2018, vol. 6, no. 4, pp. 11718–1175. https://doi.org/10.1016/j.jaip.2018.06.001

5. Cicardi M., Aberer W., Banerji A., Bas M., Bernstein J. A., Bork K. [et al.]. Classification, diagnosis, and approach to treatment for angioedema: consensus report from the Hereditary Angioedema International Working Group. *Allergy*, 2014, vol. 69, no. 5, pp. 602–616. https://doi.org/10.1111/all.12380

6. Beltrami L., Zanichelli A., Zingale L., Vacchini R., Carugo S., Cicardi M. Long-term follow-up of 111 patients with angiotensinconverting enzyme inhibitor-related angioedema. *Journal of Hypertension*, 2011, vol. 29, no. 11, pp. 2273–2277. https://doi.org/10.1097/HJH.0b013e32834b4b9b

7. Maas C., López-Lera A. Hereditary angioedema: insights into inflammation and allergy. *Molecular Immunology*, 2019, vol. 112, no. 4, pp. 378–386. https://doi.org/10.1016/j.molimm.2019.06.017

8. Nussberger J., Cugno M., Cicardi M., Agostoni A. Local bradykinin generation in hereditary angioedema. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 1999, vol. 104, no. 6, pp. 1321–1322. https://doi.org/10.1016/s0091-6749(99)70030-8

9. Cugno M., Nussberger J., Cicardi M., Agostoni A. Bradykinin and the pathophysiology of angioedema. *International Immunopharmacology,* 2003, vol. 3, no. 3, pp. 311–317. https://doi.org/10.1016/S1567-5769(02)00162-5

10. Davis 3rd A. E. Mejia P., Lu F. Biological activities of C1 inhibitor. *Molecular Immunology*, 2008, vol. 45, no. 16, pp. 4057–4063. https://doi.org/10.1016/j.molimm.2008.06.028

11. Kaplan A. P., Joseph K. Kinin formation in C1 inhibitor deficiency. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 2010, vol. 125, no. 6, pp. 1411–1412. https://doi.org/10.1016/j.jaci.2010.02.036

12. Zuraw B. L., Christiansen S. C. HAE pathophysiology and underlying mechanisms. *Clinical Reviews in Allergy & Immunology*, 2016, vol. 51, no. 2, pp. 216–229. https://doi.org/10.1007/s12016-016-8561-8

13. Bossi F., Fischetti F., Regoli D. [et al.] Novel pathogenic mechanism and therapeutic approaches to angioedema associated with C1 inhibitor deficiency. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 2009, vol. 124, no. 6, pp. 1303–1310e4. https://doi.org/10.1016/j.jaci.2009.08.007

14. Agostoni A., Aygören-Pürsün E., Binkley K. E., Blanch A., Bork K., Bouillet L. [et al.]. Hereditary and acquired angioedema: problems and progress: proceedings of the third C1 esterase inhibitor deficiency workshop and beyond. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 2004, vol. 114, no. 3 (suppl.), pp. S51–S131. https://doi.org/10.1016/j.jaci.2004.06.047

15. Zanichelli A., Magerl M., Longhurst H., Fabien V., Maurer M. Hereditary angioedema with C1 inhibitor deficiency: delay in diagnosis in Europe. *Allergy, Asthma and Clinical Immunology*, 2013, vol. 9, art. 29. https://doi.org/10.1186/1710-1492-9-29

16. Zuraw B. L. Clinical practice. Hereditary angioedema. *New England Journal of Medicine*, 2008, vol. 359, no. 10, pp. 1027–1036. https://doi.org/10.1056/NEJMcp0803977

17. Longhurst H., Cicardi M. Hereditary angio-oedema. *Lancet*, 2012, vol. 379, no. 9814, pp. 474–481. https://doi.org/10.1016/S0140-6736(11)60935-5

18. Cicardi M., Bork K., Caballero T., Craig T., Li H. H., Longhurst H., Reshef A., Zuraw B. Evidence-based recommendations for the therapeutic management of angioedema owing to hereditary C1 inhibitor deficiency: consensus report of an International Working Group. *Allergy*, 2012, vol. 67, no. 2, pp. 147–157. https://doi.org/10.1111/j.1398-9995.2011.02751.x

19. Sabharwal G., Craig T. Recombinant human C1 esterase inhibitor for the treatment of hereditary angioedema due to C1 inhibitor deficiency (C1-INH-HAE). *Expert Review of Clinical Immunology*, 2015, vol. 11, no. 3, pp. 319–327. https://doi.org/10.1586/1744666x.2015.1012502

20. Banerji A., Riedl M. A., Bernstein J. A., Cicardi M., Longhurst H. J., Zuraw B. L. [et al.]. Effect of lanadelumab compared with placebo on prevention of hereditary angioedema attacks: a randomized clinical trial. *Journal of the American Medical Association*, 2018, vol. 320, no. 20, pp. 2108–2121. https://doi.org/10.1001/jama.2018.16773

21. Bork K., Barnstedt S. E., Koch P., Traupe H. Hereditary angioedema with normal C1-inhibitor activity in women. *Lancet*, 2000, vol. 356, no. 9225, pp. 213–217. https://doi.org/10.1016/s0140-6736(00)02483-1

22. Bork K., Wulff K., Steinmüller-Magin L., Braenne I., Staubach-Renz P., Witzke G., Hardt. J. Hereditary angioedema with a mutation in the plasminogen gene. *Allergy*, 2018, vol. 73, no. 2, pp. 442–459. https://doi.org/10.1111/all.13270

23. Bafunno V., Firin, D., D'Apolito M., Cordisco G., Loffredo S., Leccese A., Margaglione M. Mutation of the angiopoietin-1 gene (ANGPT1) associates with a new type of hereditary angioedema. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 2018, vol. 141, no. 3, pp. 1009–1017. https://doi.org/10.1016/j.jaci.2017.05.020

24. Bork K., Wulff K., Rossmann H., Steinmüller-Magin L., Brænne I., Witzke G., Hardt, J. Hereditary angioedema cosegregating with a novel kininogen1 gene mutation changing the N-terminal cleavage site of bradykinin. *Allergy*, 2019, vol. 74, no. 12, pp. 2479–2481. https://doi.org/10.1111/all.13869

25. Vitrat-Hincky V., Gompel A., Dumestre-Perard C., Boccon-Gibod I., Droue, C., Cesbron J. Y., Bouillet L. Type III hereditary angio-oedema: clinical and biological features in a French cohort. *Allergy*, 2010, vol. 65, no. 10, pp. 1331–1336. https://doi.org/10.1111/j.1398-9995.2010.02368.x

26. Björkqvist J., de Maat S, Lewandrowski U., Di Gennaro A., Oschatz C., Schönig K. [et al.] Defective glycosylation of coagulation factor XII underlies hereditary angioedema type III. *Journal of Clinical Investigation*, 2015, vol. 125, no. 8, pp. 3132–3146. https://doi.org/10.1172/jci77139

27. *Ensembl genome browser 95*. Available at: http://www.ensembl.org/index.html (accessed 13.01.2019).

28. *GeneCards The Human Gene Databace*. Available at: https://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=KNG1 (accessed 01.07.2020).

Информация об авторах

Гурьянова Ирина Евгеньевна – науч. сотрудник. Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии (ул. Фрунзенская, 43, 223053, д. Боровляны, Минский р-н, Республика Беларусь). E-mail: guryanovairina1985@gmail.com

Жаранкова Юлия Сергеевна – врач-гематолог. Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии (ул. Фрунзенская, 43, 223053, д. Боровляны, Минский р-н, Республика Беларусь). E-mail: marukovich85@mail.ru

Полякова Екатерина Александровна – мл. науч. сотрудник. Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии (ул. Фрунзенская, 43, 223053, д. Боровляны, Минский р-н, Республика Беларусь). E-mail: polyakovakat86@gmail.com

Пугачева Валерия Викторовна – мл. науч. сотрудник. Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии (ул. Фрунзенская, 43, 223053, д. Боровляны, Минский р-н, Республика Беларусь). E-mail: v_v_pugacheva@mail.ru

Скоповец Екатерина Ярославовна – мл. науч. сотрудник. Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии (ул. Фрунзенская, 43, 223053, д. Боровляны, Минский р-н, Республика Беларусь). E-mail: Skopovets@yandex.ru

Белевцев Михаил Владимирович – канд. биол. наук, доцент, заместитель директора по науке. Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии (ул. Фрунзенская, 43, 223053, д. Боровляны, Минский р-н, Республика Беларусь). E-mail: belevtcev_m@mail.ru

Алейникова Ольга Витальевна – член-корреспондент, д-р мед. наук, профессор, гл. науч. сотрудник. Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии (ул. Фрунзенская, 43, 223053, д. Боровляны, Минский р-н, Республика Беларусь). E-mail: aleinikova2004@mail.ru

Information about the authors

Irina E. Guryanova – Researcher. Republican Research Center for Pediatric Oncology, Hematology and Immunology (43, Frunzenskaya Str., 223053, v. Borovliany, Minsk Region, Republic of Belarus). E-mail: guryanovairina1985@gmail.com

Yulia S. Zharankova – Hematologist. Republican Research Center for Pediatric Oncology, Hematology and Immunology (43, Frunzenskaya Str., 223053, v. Borovliany, Minsk Region, Republic of Belarus). E-mail: marukovich85@mail.ru

Ekaterina A. Polyakova – Junior Researcher. Republican Research Center for Pediatric Oncology, Hematology and Immunology (43, Frunzenskaya Str., 223053, v. Borovliany, Minsk Region, Republic of Belarus). E-mail: polyakovakat86@gmail.com

Valeria V. Pugacheva – Junior Researcher. Republican Research Center for Pediatric Oncology, Hematology and Immunology (43, Frunzenskaya Str., 223053, v. Borovliany, Minsk Region, Republic of Belarus). E-mail: v_v_pugacheva@mail.ru

Katsiaryna Ya. Skapavets – Junior Researcher. Republican Research Center for Pediatric Oncology, Hematology and Immunology (43, Frunzenskaya Str., 223053, v. Borovliany, Minsk Region, Republic of Belarus). E-mail: Skopovets@yandex.ru

Mikhail V. Belevtsev – Ph. D. (Biol.), Associate Professor, Head of the Research Department. Republican Research Center for Pediatric Oncology, Hematology and Immunology (43, Frunzenskaya Str., 223053, v. Borovliany, Minsk Region, Republic of Belarus). E-mail: belevtcev_m@mail.ru

Olga V. Aleinikova – Corresponding Member, D. Sc. (Med.), Professor, Chief Researcher. Republican Research Center for Pediatric Oncology, Hematology and Immunology (43, Frunzenskaya Str., 223053, v. Borovliany, Minsk Region, Republic of Belarus). E-mail: aleinikova2004@mail.ru

ISSN 1814-6023 (Print)
ISSN 2524-2350 (Online)
УДК 616.419+618.38]-018.46
https://doi.org/10.29235/1814-6023-2021-18-1-36-45

Поступила в редакцию 30.07.2020
Received 30.07.2020

А. А. Жерносеченко, Я. И. Исайкина, Т. В. Филипович, Е. Г. Лях

Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии, д. Боровляны, Минский р-н, Республика Беларусь

ХОНДРОГЕННЫЙ И ОСТЕОГЕННЫЙ ПОТЕНЦИАЛ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК КОСТНОГО МОЗГА И ПЛАЦЕНТЫ

Аннотация. Мезенхимальные стволовые клетки (МСК) представляют собой перспективный ресурс для клеточных биотехнологий. Тем не менее вопрос о преимуществах использования МСК различного происхождения для хондро- и остеогенной дифференцировки требует дальнейшего изучения.

Целью данного исследования являлось проведение анализа остеохондрогенного дифференцировочного потенциала МСК, полученных из костного мозга и тканей плаценты. Результаты наших исследований свидетельствуют, что МСК как костного мозга, так и плаценты под влиянием индукционных факторов дифференцируются в хондрогенном направлении. Тем не менее реализация программы хондрогенеза в МСК костного мозга происходит преимущественно за счет экспрессии коллагенов (*Coll2*, *Coll10*), в то время как для МСК плаценты характерен более высокий синтез неколлагеновых белков внеклеточного матрикса (*COMP*, *Ver*). В связи с этим применение МСК костного мозга в инженерии хрящевой ткани более предпочтительно. Оценка синтеза щелочной фосфатазы и накопления кальциевых депозитов в дифференцированных клетках показала, что остеогенный дифференцировочный потенциал МСК костного мозга выше, чем МСК плаценты. МСК костного мозга, находясь в составе фибринового геля, дифференцируются в остеогенном направлении под влиянием индукционных факторов на 14-й день, что подтверждается синтезом щелочной фосфатазы, депонированием солей кальция внутри клетки и во внеклеточном матриксе, увеличением экспрессии мРНК *Sp7* и *DMP*.

Ключевые слова: мезенхимальные стволовые клетки, остеогенная дифференцировка, хондрогенная дифференцировка, фибриновый гель

Для цитирования: Хондрогенный и остеогенный потенциал мезенхимальных стволовых клеток костного мозга и плаценты / А. А. Жерносеченко [и др.] // Вес. Нац. акад. навук Беларусі. Сер. мед. навук. – 2021. – Т. 18, № 1. – С. 36–45. https://doi.org/10.29235/1814-6023-2021-18-1-36-45

Hanna A. Zhernasechanka, Yanina I. Isaikina, Tatiana V. Filipovich, Elena G. Liakh

Republican Research Center for Pediatric Oncology, Hematology and Immunology, v. Borovliany, Minsk Region, Republic of Belarus

OSTEOGENIC AND CHONDROGENIC DIFFERENTIATION POTENTIAL OF MESENCHYMAL STEM CELLS OBTAINED FROM THE BONE MARROW AND PLACENTA

Abstract. Mesenchymal stem cells (MSC) represent a perspective resource for cell biotechnology. However the question of chondrogenic and osteogenic capacity of MSC of different origin remains under study.

The aim of this study was to analyze the osteo-chondrogenic differentiation potential of MSC obtained from the bone marrow and placenta. The results of our studies have indicated that bone marrow-derived and placenta-derived MSC showed a chondrogenic potential *in vitro* after a chondrogenic induction with specific differentiation media. But for bone marrow-derived MSC, the chondrogenic program was realized by expression of collagens (*Coll2*, *Coll10*), while in placenta-derived MSC cultures we found a progressive increase in *COMP* and *Ver* expression, so bone marrow-derived MSC is more preferable for use in cartilage tissue engineering. Regarding the results on alkaline phosphatase and alizarin red staining, bone marrow-derived MSC showed a more significant osteogenic potential compared to placenta-derived MSC. Bone marrow-derived MSC in the composition of fibrin gel after osteogenic induction on the 14th day exhibited the activity of alkaline phosphatase, calcium depositions inside the cells and extracellular matrix, the increase in *Sp7* and *DMP* expression.

Keywords: mesenchymal stem cells, osteogenic differentiation, chondrogenic differentiation, fibrin gel

For citation: Zhernasechanka H. A., Isaikina Ya. I., Filipovich T. V., Liakh E. G. Osteogenic and chondrogenic differentiation potential of mesenchymal stem cells obtained from the bone marrow and placenta. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seriya meditsinskikh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2021, vol. 18, no. 1, pp. 36–45 (in Russian). https://doi.org/1.29235/1814-6023-2021-18-1-36-45

Введение. Мезенхимальные стволовые клетки (МСК) благодаря своей пластичности, иммуномодуляторным свойствам и секреции широкого спектра цитокинов и других активных молекул представляют собой перспективный ресурс для клеточных биотехнологий [1]. На сегодняшний день разработаны протоколы получения МСК из различных источников, в частности из костного мозга, жировой ткани, плаценты, пуповинной крови, пульпы зуба, кожи и подкожной клетчатки, слюнных желез, менструальной крови, периферической крови и т. д. [2].

Для унификации характеристик МСК, полученных в разных лабораториях, и облегчения обмена данными между исследователями Международное общество клеточной терапии (The International Society for Cellular Therapy (ISCT)) в 2006 г. предложило минимальные критерии для установления принадлежности клеток к МСК: наличие адгезивных свойств в стандартных условиях культивирования; экспрессия поверхностных молекул CD105, CD73 и CD90 и отсутствие экспрессии CD45, CD34, CD14 или CD11b, CD79alpha или CD19 и HLA-DR; способность к дифференцировке в остео-, адипо- и хондрогенном направлении *in vitro* [3]. Несмотря на соответствие МСК вышеупомянутым критериям, клетки, полученные из различных источников, имеют специфические особенности.

Наиболее изученными являются МСК, выделенные из костного мозга (КМ-МСК) и жировой ткани. Тем не менее для выделения популяции данных клеток требуются инвазивные процедуры. Альтернативным источником МСК могут являться ткани послеродовой плаценты (П-МСК). П-МСК обладают рядом преимуществ: более высоким пролиферативным потенциалом, экспрессией плюрипотентных маркеров, отсутствием эффектов старения на ранних пассажах культивирования, которые наблюдаются в МСК из тканей взрослого организма. Кроме того, отсутствие этических ограничений и доступность материала послеродовой плаценты открыли новые возможности для развития терапии стволовыми клетками [1].

Применению МСК, полученных из костного мозга и тканей плаценты, для регенерации хрящевой и костной ткани посвящено много экспериментальных и клинических исследований, результаты которых подтвердили эффективность этого метода клеточной терапии, однако нет единого мнения о преимуществе использования МСК из того или иного источника. J. S. Heo с соавт. [4] в своем исследовании потенциала дифференцировки в хондро- и остеогенном направлении и иммуномодулирующего эффекта показали, что МСК костного мозга и жировой ткани представляют собой более оптимальный источник стволовых клеток для тканевой инженерии, чем МСК плаценты и пуповинной крови. M. E. Bernardo с соавт. [5] в своей экспериментальной работе продемонстрировали, что КМ-МСК обладают более высокой способностью к хондрогенной дифференцировке, чем П-МСК.

С другой стороны, S. Hsu с соавт. [6] придерживаются противоположного мнения, утверждая, что для тканевой инженерии хрящевой ткани более предпочтительно применение П-МСК, чем КМ-МСК. N. Beeravolu с соавт. [7], используя молекулярно-генетический метод для оценки интенсивности остео- и хондрогенной дифференцировки МСК, выделенных из различных тканей, показали, что в случае остеогенной дифференцировки МСК, выделенные из области соединения плаценты с пуповиной, демонстрируют более интенсивную экспрессию генов коллагена I типа, остеопонтина и остеокальцина, а при хондрогенной дифференцировке – более высокую экспрессию генов хондрогенеза *Sox9* и *Coll2* по сравнению с КМ-МСК.

Таким образом, вопрос о преимуществах использования МСК различного происхождения для хондрогенной и остеогенной дифференцировки для репарации хрящевой и костной ткани требует дальнейшего изучения.

Цель данного исследования – проведение анализа остеохондрогенного дифференцировочного потенциала мезенхимальных стволовых клеток, полученных из костного мозга и ткани плаценты.

Материалы и методы исследования. *Получение КМ-МСК.* Для получения МСК мононуклеарные клетки выделяли из проб костного мозга на Гистопаке плотностью 1,077 г/мл (Sigma, США), отмывали в 0,9 %-ном NaCl, ресуспендировали в IMDM с 10 %-ной эмбриональной телячьей сывороткой (ЭТС) (Sigma, США) и переносили в концентрации $(2–3)\cdot10^6$/мл во флакон Т25 (Sarstedt, Германия).

Получение П-МСК. Для выделения МСК из ткани плаценты использовали ферментативный способ. Фрагменты тканей плаценты смешивали с 0,14 %-ным раствором коллагеназы I (Stem Cell Techologies, Канада) в соотношении 1:1, инкубировали 30 мин при 37 °С с последующей инактивацией фермента 10 %-ной ЭТС (Sigma, США). Полученные клетки культивировали в среде IMDM (Life Technologies, США) с 10 %-ной ЭТС МСК (Sigma, США) и антибиотиком-антимикотиком (Life Technologies, США).

КМ-МСК и П-МСК инкубировали при +37 °С и 5 % CO_2. Смена среды каждые 3–4 дня. При получении 80–90 % конфлюэнтного слоя МСК дезадгезировали 0,25 %-ным трипсином-ЭДТА (Sigma, США), отмывали в 0,9 %-ном NaCl и переносили во флаконы Т75 в количестве $0{,}5 \cdot 10^6$ для экспансии.

Хондрогенная дифференцировка МСК в пеллете. Для хондрогенной дифференцировки в 3D системе (пеллете) МСК переносили в дифференцировочную среду: DMEM с 10 нг/мл TGFβ3 (Life technologies, США), 100 нг/мл IGF1, 10^{-7} М дексаметазона, 1 % антибиотика, центрифугировали при 250 g в течение 5 мин и культивировали в течение 21 дня, меняя среду каждые 3–4 дня. Гистологическое окрашивание срезов клеточных пеллетов после хондродифференцировки красителем толуидиновым синим проводили для оценки синтеза клетками гликозаминогликонов внеклеточного матрикса.

Остеогенная дифференцировка МСК в монослое. Для проведения эксперимента по остеогенной диффференцировке МСК, полученные из костного мозга и плаценты, помещали в 4-луночный планшет по $2{,}5 \cdot 10^5$/лунку в среду DMEM с 10 %-ной ЭТС в двух вариантах: с добавлением 10 мМ глицерол-2-фостата, 1 % антибиотика, 50 мкг/мл L-аскорбиновой кислоты, 10 нг/мл BMP-2, 100 нМ дексаметазона и без факторов дифференцировки (контроль). МСК культивировали в CO_2-инкубаторе при 37 °С, 5 % CO_2 и 90 %-ной влажности, меняя среду каждые 3–4 дня. Кроме того, для П-МСК в качестве индукции остеогенной дифференцировки использовали кондиционную среду от дифференцирующихся КМ-МСК.

Остеодифференцировка в 3D системе. МСК культивировали в среде DMEM с добавлением факторов для остеогенной дифференцировки. В качестве носителя применяли фибриновый гель. МСК в фибриновом геле получали путем смешивания суспензии клеток с 0,01 г фибриногена, растворенного в 1 мл 0,9 %-ного водного раствора хлорида натрия с добавлением 100 мкл апротенина, и последующего добавления 10 IU тромбина, разведенного в 1 мл 0,9 %-ного водного раствора хлорида натрия. Носитель помещали в лунку 24-луночного планшета совместно с $1 \cdot 10^6$ МСК в 1 мл дифференцировочной среды. Планшет помещали в CO_2-инкубатор при 37 °С, 5 % CO_2 и 90 %-ной влажности. Культивирование проводили в течение 14 дней, меняя среду каждые 3–4 дня.

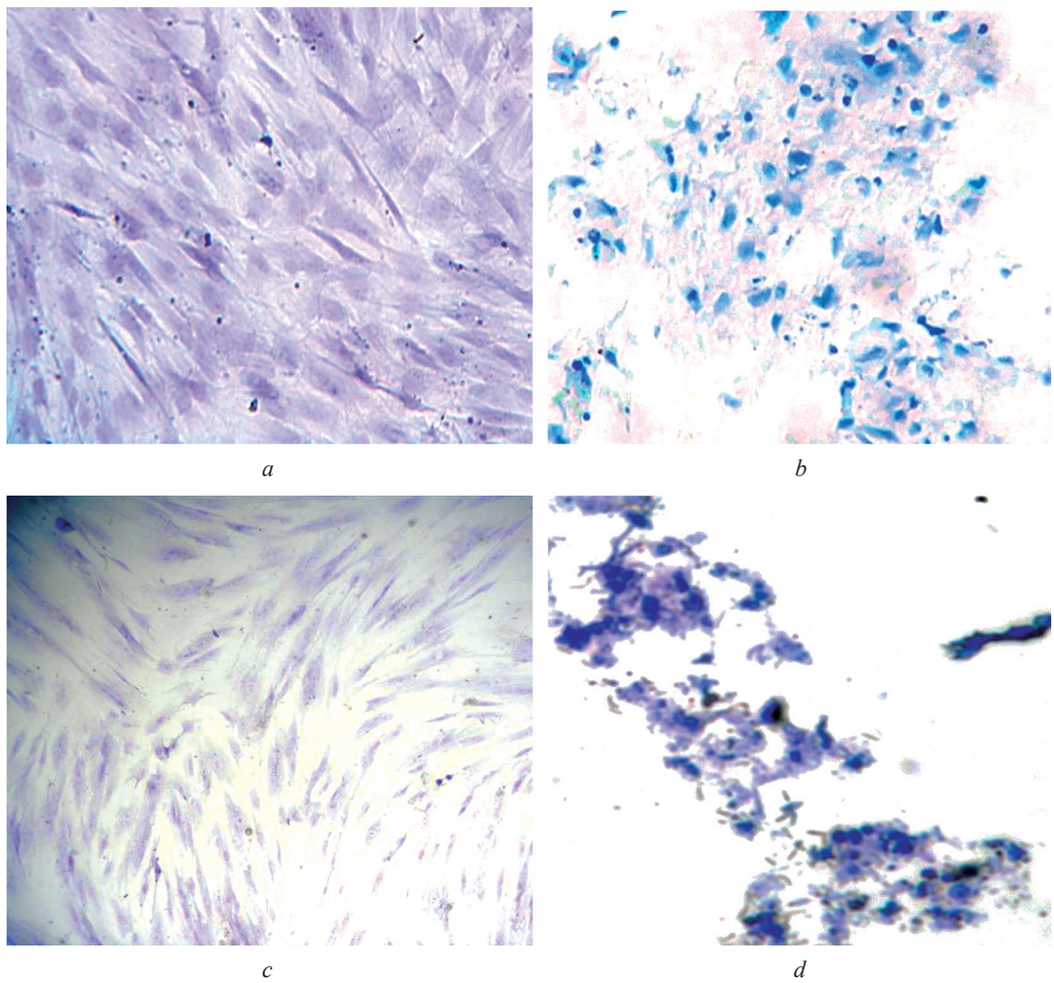
Для подтверждения направленной остеогенной дифференцировки клетки окрашивали, используя для оценки активности щелочной фосфатазы набор Fast Blue RR Salt, Naphtol AS MX Phosphate Alkaline Solution (Sigma, США) согласно инструкции. Присутствие в клетках кальциевых депозитов подтверждали путем окраски 2 %-ным раствором ализаринового красного (pH 4,1) в течение 45 мин после фиксации (30 мин) в 10 %-ном растворе формальдегида.

Методом количественной ПЦР в реальном времени определяли экспрессию генов *Runx2*, *Sp7*, *DMP*, *Coll2*, *Coll1*, *Coll10*, *COMP*, *Ver.* Методом обратной транскрипции проводили синтез комплементарных цепочек ДНК, используя в качестве матрицы выделенную РНК, для чего 1 мкг РНК в концентрации 0,1 мкг/1 мкл воды денатурировали в течение 10 мин при 700 °С. Затем аликвоту РНК, охлажденную на льду, вносили в смесь для обратной транскрипции (4 мкл 5-кратного буфера для обратной транскриптазы (Promega, США), 2 мкл 10 мМ смеси дезнуклеотидтрифосфатов, 1 мкл 500 мМ случайных праймеров (рэндом гексамеров) (Invitrogen, США), 0,5 мкл ингибитора рибонуклеаз в концентрации 40 Ед/мкл, 1 мкл 200 Ед/мкл обратной транскриптазы MMLV (Promega, США) и 1,5 мкл воды) и инкубировали, используя программу: 20 °С – 10 мин, 42 °С – 45 мин, 99 °С – 3 мин. Разводили кДНК водой до конечного объема 50 мкл. В работе использовали праймеры к исследуемым генам. В качестве контрольного гена использовали ген *ABL* (альбумин**)**. Значение экспрессии генов рассчитывали как соотношение экспрессии интересующих генов и контрольного гена. В качестве флуоресцентного красителя применяли

SYBR Green. Для приготовления реакционной смеси использовали набор QuantiTect SYBR Green PCR Kits (QIAGEN). ПЦР проводили как однокомпонентную реакцию (в каждой пробирке праймеры к одной мишени). Условия проведения реакции были следующими: при 500 °С – 2 мин, при 950 °С – 15 мин, при 940 °С – 15 с, при 600 °С – 30 с, при 720 °С – 30 с. Анализ специфичности амплификации проверяли по кривым плавления.

Статистическая обработка данных проводилась с использованием пакета программ Statistica 6 (StatSoft, США) и включала методы описательной статистики с определением медианы, 25-го и 75-го процентилей и методы анализа для непараметрического распределения: достоверность различий между независимыми выборками оценивали с помощью *U*-критерия Манна–Уитни, а для сравнения связанных выборок – критерий Уилкоксона. Зависимость между показателями определяли с помощью коэффицента корреляции Спирмана (Spearman Rank Order Correlations). При уровне значимости $p < 0,05$ различия показателей считали достоверными.

Результаты и их обсуждение. *Хондрогенная дифференцировка КМ-МСК и П-МСК в пеллетной культуре.* Было проведено культивирование МСК в присутствии факторов хондрогенной дифференцировки в пеллетной культуре в течение 21 дня. Анализ продукции компонентов внеклеточного матрикса хрящевой ткани показал, что КМ-МСК и П-МСК на 21-й день синтезируют протеогликаны, что подтверждалось положительной окраской толуидиновым синим (рис. 1, *b, d*), причем интенсивное фиолетовое окрашивание свидетельствовало о более высоком синтезе кислых мукополисахаридов в клетках, полученных при хондродифференцировке П-МСК (рис. 1, *d*).



a *b*

c *d*

Рис. 1. Окраска культуры толуидиновым синим до дифференцировки КМ-МСК (*a*), П-МСК (*c*) и после 21 дня хондродифференцировки КМ-МСК (*b*), П-МСК (*d*). ×400

Fig. 1. Toluidine blue staining of before differentiation BM-MSC (*a*), P- MSC (*c*) and pellet after 21 days of chondrodifferentiation of BM-MSC (*b*), P-MSC (*d*). ×400

Анализ основных хондрогенных маркеров методом ПЦР после 7 дней направленной индукции показал, что среди генов, отвечающих за синтез коллагенов, экспрессия *Coll2* в 18 раз, а *Coll10* – в 4 раза выше в преддифференцированных КМ-МСК, чем в П-МСК ($p < 0,05$) (табл. 1), т. е. в КМ-МСК идет более интенсивный синтез коллагена II и X типов. Последнее согласуется с данными M. E. Bernardo с соавт. [5], которые с использованием метода иммуногистохимии установили, что пробы КМ-МСК после хондродифференцировки дают положительную окраску на коллаген X, в отличие от П-МСК, на основании чего авторы сделали заключение, что только КМ-МСК способны дойти до терминальной фазы дифференцировки. Но, так как экспрессия гена *Coll10* свидетельствует о гипертрофии получаемых *in vitro* хондроцитоподобных клеток, то высокая активность этого гена может рассматриваться нами как негативный момент хондродифференцировки МСК. Достоверных различий в экспрессии гена *Coll1* между КМ-МСК и П-МСК не наблюдалось.

Таблица 1. **Экспрессия генов в КМ-МСК и П-МСК на 7-й день хондродифференцировки**

Table 1. **Gene expression profiles in BM-MSC and P-MSC after 7 days of chondrogenic differentiation**

Ген	Уровень экспрессии, Me (25 %–75 %)	
	КМ-МСК ($n = 16$)	П-МСК ($n = 12$)
Coll2	18,57 (2,69–93,38)	1,00 (0,30–2,87)*
Coll1	0,08 (0,02–0,10)	0,04 (0,02–0,13)
Coll10	2,31 (0,51–3,71)	0,56 (0,18–0,63)*
COMP	0,31 (0,11–0,84)	1,85 (1,03–2,93)*
Ver	0,16 (0,05–0,19)	0,33 (0,21–0,76)*

Примечание. Здесь и в табл. 2: * – достоверность различий ($p < 0,05$).

Проведено сравнение экспрессии генов, кодирующих неколлагеновые белки матрикса хрящевой ткани: *COMP*, отвечающего за синтез олигомерного матриксного белка хряща, который связывает между собой коллагеновые волокна, а также *Ver* – гена версикана из семейства аггреканов. Анализ показал, что экспрессия *COMP* более чем в 6 раз и *Ver* в 2 раза выше в преддифференцированных П-МСК, чем в КМ-МСК ($p < 0,05$) (табл. 1).

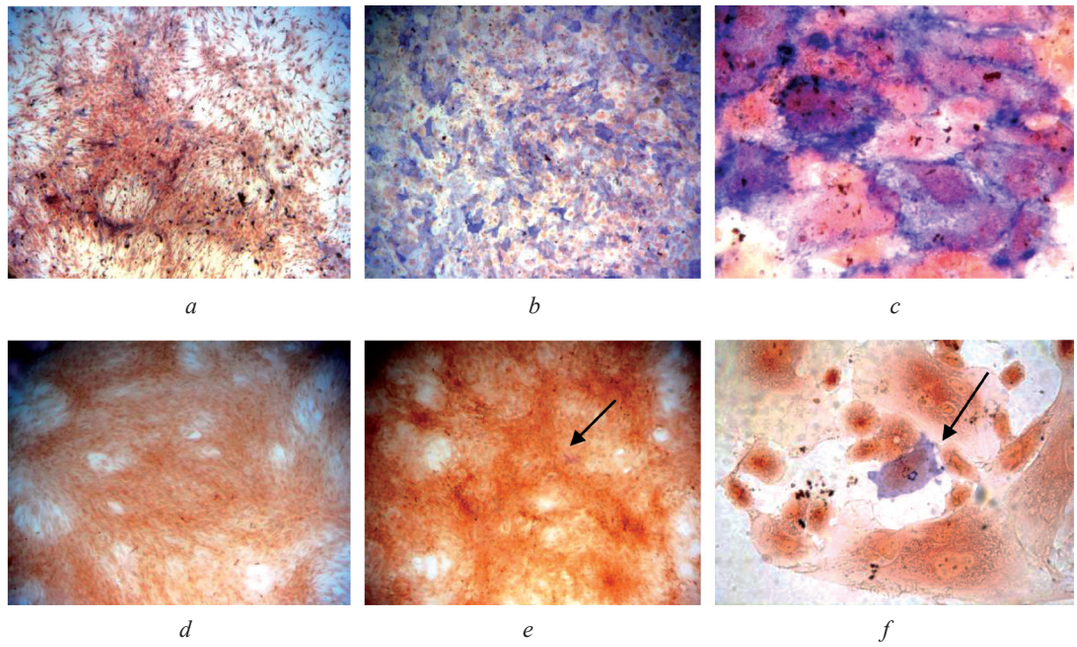
Считается, что основным недостатком при создании биоинженерного хряща является низкое содержание коллагенов. L. Kock с соавт. [8] выдвинули гипотезу, согласно которой более интенсивный синтез протеогликанов препятствует наработке коллагенов, а чрезмерное количество протеогликанов увеличивает нагрузку на фибриллярную сеть коллагенов, отрицательно влияя на растяжимость ткани.

Полученные нами результаты свидетельствуют, что реализация хондрогенной программы в КМ-МСК происходит главным образом за счет экспрессии коллагенов (*Coll2*, *Coll10*), в то время как для П-МСК характерен более высокий потенциал в индукции синтеза неколлагеновых белков внеклеточного матрикса, кодируемых генами *COMP* и *Ver*, в связи с чем применение КМ-МСК в инженерии хрящевой ткани рассматривается нами как более предпочтительный источник МСК.

Остеогенная дифференцировка КМ-МСК и П-МСК в 2D системе. Воздействие факторов индукции остеогенеза в течение 21 дня на КМ-МСК ($n = 6$) и П-МСК ($n = 12$) в монослойной культуре привело к изменению морфологии большинства клеток КМ-МСК, которые утрачивали характерную для МСК веретенообразную форму и трансформировались в широкие, распластанные клетки, подобные остеобластам, и плоские клетки с большим числом контактирующих отростков, подобные остеоцитам. В культуре П-МСК морфология, характерная для дифферона остеоцита, наблюдалась только у отдельных клеток. Сравнительная оценка синтеза щелочной фосфатазы методом гистохимического окрашивания показала, что продукция данного компонента матрикса при остеодифференцировке КМ-МСК значительно выше (рис. 2, *b*, *c*), чем при остеодифференцировке П-МСК (рис. 2, *e, f*).

Гистохимическая окраска ализариновым красным КМ-МСК (рис. 3, *a*, *b*) и П-МСК (рис. 3, *c*, *d*, *e*) подтвердила наличие в клетках после остеогенной дифференцировки депонированных солей кальция, которые отсутствовали в контроле (рис. 3, *a*, *c*). При этом кальциевые депозиты в дифференцированных П-МСК (рис. 3, *d*) отмечены в значительно меньшем количестве, чем в КМ-МСК (рис. 3, *b*).

Проведенная нами индукция остеогенеза в П-МСК путем добавления к клеткам кондиционной среды от дифференцирующихся КМ-МСК привела к интенсивному накоплению солей кальция в остеодифференцированных П-МСК (рис. 3, *e*).

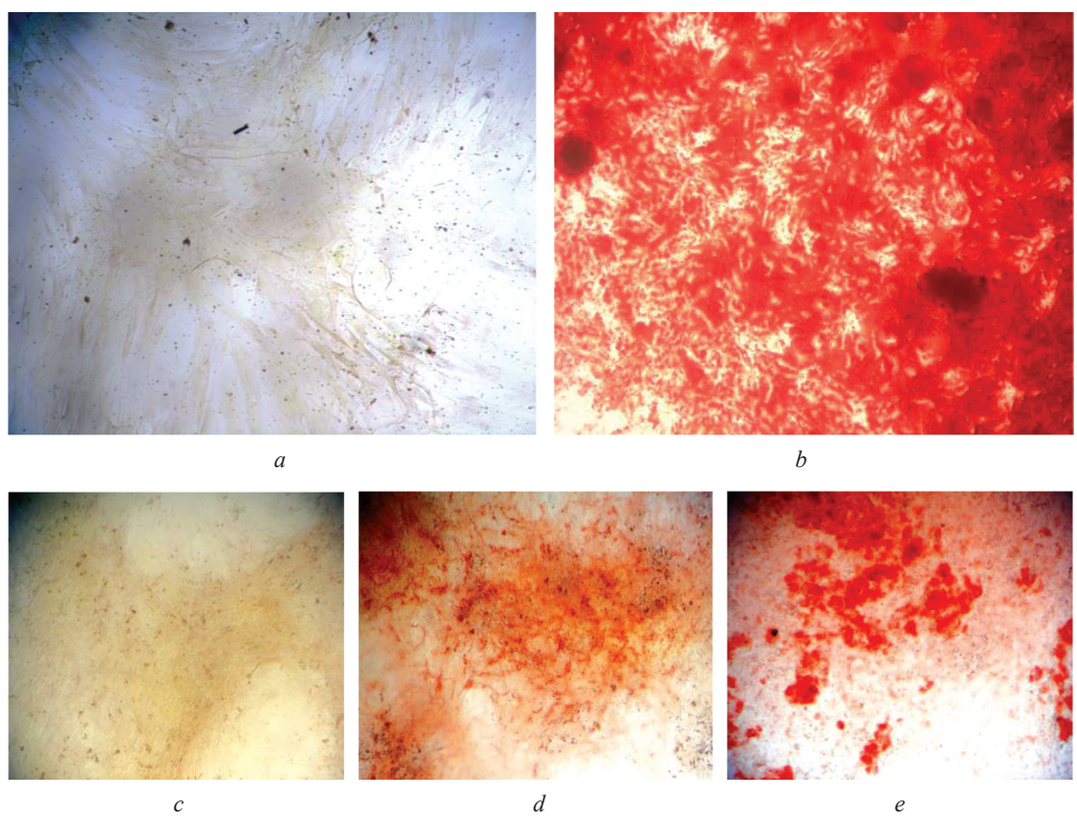


a *b* *c*

d *e* *f*

Рис. 2. Окраска культуры на щелочную фосфатазу до дифференцировки КМ-МСК (*a*), П-МСК (*d*) и после остеодифференцировки КМ-МСК (*b*, *c*), П-МСК (*e*, *f*). ×40 (*a*, *b*, *d*, *e*), ×400 (*c*, *f*)

Fig. 2. Staining with alkaline phosphatase histochemistry before differentiation BM-MSC (*a*), P-MSC (*d*) and after osteogenic differentiation BM-MSC (*b*, *c*), P-MSC (*e*, *f*). ×40 (*a*, *b*, *d*, *e*), ×400 (*c*, *f*)

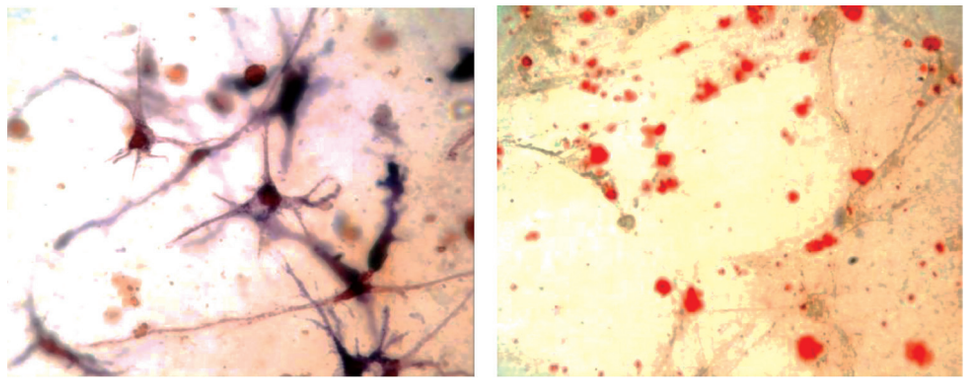


a *b*

c *d* *e*

Рис. 3. Окраска культуры ализариновым красным до дифференцировки КМ-МСК (*a*), П-МСК (*c*) и после остеодифференцировки КМ-МСК (*b*), П-МСК (*d*, *e*), П-МСК в кондиционной среде (*e*). ×40

Fig. 3. Alizarin red staining before differentiation BM-MSC (*a*), P-MSC (*c*) and after osteogenic differentiation BM-MSC (*b*), P-MSC (*d*, *e*), P-MSC – in conditioned media from differentiating BM-MSC (*e*). ×40



a *b*

Рис. 4. МСК в фибриновом геле на 14-й день остеодифференцировки: окраска на щелочную фосфатазу (*a*), окраска солей кальция ализариновым красным (*b*). ×400

Fig. 4. Osteogenic differentiation BM-MSC in fibrin gel for 14 days: alkaline phosphatase staining (*a*), alizarin red staining (*b*). ×400

Экспериментальные исследования дифферона МСК костного мозга показали, что существуют коммитированные клетки с различным набором потенций и что, согласно иерархической модели, предложенной A. Muraglia с соавт. [9], ранние предшественники МСК костного мозга, обладающие потенциалом к дифференцировке в трех направлениях – остео-, хондро- и адипогенном, впоследствии теряют способность сначала к адипогенной, а затем и к хондрогенной дифференцировке. В конечном счете все МСК стромы обладают остеогенным потенциалом, 60–80 % клеток являются коммитированными в остео- и хондрогенном направлении, и только 30 % составляют трипотентные предшественники. Причем само микроокружение стромы костного мозга способствует сохранению МСК с остео- и хондрогенным дифференцировочным потенциалом [10]. В первичной культуре МСК остеогенно коммитированные клетки имеют повышенную активность щелочной фосфатазы и отличаются более крупным размером и сниженным пролиферативным потенциалом [11]. Это объясняет повышенную чувствительность к остеодифференцировочным агентам КМ-МСК по сравнению с П-МСК, которые содержат меньшее количество остеопрогениторных клеток.

Остеогенная дифференцировка МСК КМ-МСК в 3D системе. С целью оценки возможности остеоиндукции КМ-МСК в 3D системе нами был проведен эксперимент по заселению клеток в фибриновый гель с последующей их дифференцировкой в течение 14 дней. Через 2 ч после внесения клеток в гель наблюдалось относительно равномерное их распределение в носителе. Уже в первые 24 ч отмечалось наличие клеток с отростками, т. е. изменялась морфология МСК, а на 14-й день после направленной дифференцировки – наличие клеток с выраженными отростками, которые синтезировали щелочную фосфатазу (рис. 4, *a*) и характеризовались накоплением солей кальция, депозиты которого присутствовали как внутри-, так и внеклеточно (рис. 4, *b*).

В табл. 2 представлены данные, полученные методом количественной ПЦР в реальном времени. Нами было выявлено достоверное увеличение (в 6 раз) экспрессии мРНК *DMP* (матричный белок дентина) по отношению к контролю ($p < 0,05$). Данный ген является маркером начала минерализации матрикса. Одноименный белок представляет собой кислый фосфопротеин, который играет важную роль в инициации минерализации ткани и является специфичным белком для внеклеточного матрикса костей и зубов [12]. В 95 % случаев отмечалось увеличение экспрессии гена *Sp7*, который стимулирует экспрессию генов коллагена типа I, костного сиалопротеина, остеопонтина, остеонектина, остеокальцина, в 4 раза ($p < 0,05$) [13].

Таблица 2. **Экспрессия генов остеодифференцировки КМ-МСК в 3D системе (n = 13)**

Table 2. **Expression level of osteogenic differentiation-related genes in BM-MSC in 3D (n = 13)**

Ген	Уровень экспрессии, Me (25 %–75 %)	
	до дифференцировки	после остеодифференцировки
DMP	0,004 (0,001–0,02)	0,06 (0,02–0,13)*
Sp7	0,01 (0,002–0,05)	0,04 (0,02–0,13)
Runx2	0,3 (0,24–0,53)	0,11 (0,04–0,25)

Также нами установлена положительная корреляция между экспрессией *Sp7* и *DMP* на 0-й день ($R = 0,7$) и на 14-й день дифференцировки ($R = 0,7$) ($p < 0,05$).

Следует отметить отсутствие достоверных изменений в экспрессии транскрипционного фактора *Runx2* после 14 дней остеодифференцировки МСК в нашем исследовании. *Runx2* является регулятором реализации программы дифференцировки МСК в остеобластоподобные клетки. В начальной фазе дифференцировки отмечается высокий уровень *Runx2*, а на поздних стадиях, начиная со стадии зрелых остеобластов, его уровень постепенно снижается до полного отсутствия у остеоцитов [14, 15].

Таким образом, КМ-МСК под влиянием индукционных факторов на 14-й день дифференцировались в остеогенном направлении в 3D системе фибринового геля, что подтверждалось изменением морфологии клеток, синтезом щелочной фосфатазы, депонированием солей кальция внутри- и внеклеточно, увеличением экспрессии мРНК *Sp7* и маркера начала минерализации *DMP*.

Заключение. Результаты наших исследований показали, что МСК как костного мозга, так и плаценты под влиянием индукционных факторов дифференцируются в хондрогенном направлении, но реализация программы хондрогенеза в МСК костного мозга происходит преимущественно за счет экспрессии коллагенов (*Coll2*, *Coll10*), в то время как для МСК плаценты характерен более высокий синтез неколлагеновых белков внеклеточного матрикса, кодируемых генами *COMP* и *Ver*. В связи с этим применение МСК костного мозга в инженерии хрящевой ткани более предпочтительно.

Остеогенный дифференцировочный потенциал МСК костного мозга выше, чем МСК плаценты, что подтверждается активным синтезом щелочной фосфатазы и накоплением кальциевых депозитов в дифференцированных МСК. Однако следует отметить, что применение кондиционной среды, полученной при остеодифференцировке МСК костного мозга, значительно активирует остеогенез в МСК плаценты при культивировании.

МСК костного мозга в составе фибринового геля дифференцируются в остеогенном направлении под влиянием индукционных факторов уже на 14-й день, что подтверждается изменением морфологии клеток, синтезом щелочной фосфатазы, депонированием солей кальция внутри клетки и во внеклеточном матриксе, увеличением экспрессии мРНК *Sp7* и маркера начала минерализации *DMP*.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список использованных источников

1. Differences in the intrinsic chondrogenic potential of equine umbilical cord matrix and cord blood mesenchymal stromal/stem cells for cartilage regeneration / R. Rakic [et al.] // Sci. Reports. – 2018. – Vol. 88. – Art. 13799. https://doi.org/10.1038/s41598-018-28164-9

2. Isolation, cultivation, and characterization of human mesenchymal stem cells // D. Mushahary [et al.] / Cytometry. Part A. – 2018. – Vol 93, N 1. – P. 19–31. https://doi.org/10.1002/cyto.a.23242

3. Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy position statement / M. Dominici [et al.] // Cytotherapy. – 2006. – Vol. 8, N 4. – P. 315–317. https://doi.org/10.1080/14653240600855905

4. Comparison of molecular profiles of human mesenchymal stem cells derived from bone marrow, umbilical cord blood, placenta and adipose tissue / J. S. Heo [et al.] // Int. J. Mol. Med. – 2016. – Vol. 37, N 1. – P. 115–125. https://doi.org/10.3892/ijmm.2015.2413

5. Human mesenchymal stem cells derived from bone marrow display a better chondrogenic differentiation compared with other sources / M. E. Bernardo [et al.] // J. Connect. Tissue Res. – 2007. – Vol. 48, N 3. – P. 132–140. https://doi.org/10.1080/03008200701228464

6. Chondrogenesis from human placenta-derived mesenchymal stem cells in three-dimensional scaffolds for cartilage tissue engineering / S. Hsu [et al.] // Tissue Eng. Part A. – 2011. – Vol. 17, N 11–12. – P. 1549–1560. https://doi.org/10.1089/ten.tea.2010.0419

7. Isolation and comparative analysis of potential stem/progenitor cells from different regions of human umbilical cord / N. Beeravolu [et al.] // Stem Cell Res. – 2016. – Vol. 16, N 3. – P. 696–711. https://doi.org/10.1016/j.scr.2016.04.010

8. Kock, L. Tissue engineering of functional articular cartilage: the current status / L. Kock, C. C. van Donkelaar, K. Ito // Cell Tissue Res. – 2012. – Vol. 347, N 3. – P. 613–627. https://doi.org/10.1007/s00441-011-1243-1

9. Clonal mesenchymal progenitors from human bone marrow differentiate *in vitro* according to a hierarchical model / A. Muraglia [et al.] // J. Cell Sci. – 2000. – Vol. 113. – Pt. 7. – P. 1161–1166.

10. *In vitro* high-capacity assay to quantify the clonal heterogeneity in trilineage potential of mesenchymal stem cells reveals a complex hierarchy of lineage commitment / K. C. Russell [et al.] // Stem Cells. – 2010. – Vol. 28, N 4. – P. 788–798. https://doi.org/10.1002/stem.312

11. Characterization of different subpopulations from bone marrow-derived mesenchymal stromal cells by alkaline phosphatase expression / Y. H. Kim [et al.] // Stem Cells Dev. – 2012. – Vol 21, N 16. – P. 2958–2968. https://doi.org/10.1089/scd.2011.0349

12. Dentin matrix protein 1 (DMP1) expression in developing human teeth / E. F. Martinez [et al.] // Brazilian. Dent. J. – 2009. – Vol. 20, N 5. – P. 365–369. http://dx.doi.org/10.1590/S0103-64402009000500002]

13. Клеточно-молекулярные механизмы ремоделирования костной ткани и ее регуляция / Ф. Х. Камилов [и др.] // Фунд. исслед. – 2014. – № 7-4. – С. 836–842.

14. Bone regeneration, reconstruction and use of osteogenic cells from basic knowledge, animal models to clinical trials / G. Hutchings [et al.] // J. Clin. Med. – 2020. – Vol. 9, N 1. – pii E139. https://doi.org/10.3390/jcm9010139

15. Transient upregulation of CBFA1 in response to bone morphogenetic protein-2 and transforming growth factor beta1 in C2C12 myogenic cells coincides with suppression of the myogenic phenotype but is not suffcient for osteoblast differentiation / M. Lee [et al.] // J. Cell. Bioche. – 1999. – Vol. 73, N 1. – P. 114–125. https://doi.org/10.1002/(sici)1097-4644(19990401)73:1<114::aid-jcb13>3.0.co;2-m

References

1. Rakic R., Bourdon B., Demoor M., Maddens St., Saulnier N., Galéra Ph. Differences in the intrinsic chondrogenic potential of equine umbilical cord matrix and cord blood mesenchymal stromal/stem cells for cartilage regeneration. *Scientific Reports*, 2018, vol. 88, art. 13799. https://doi.org/10.1038/s41598-018-28164-9

2. Mushahary D., Spittler A., Kasper C., Weber V., Charwat V. Isolation, cultivation, and characterization of human mesenchymal stem cells. *Cytometry. Part A*, 2018, vol. 93, no. 1, pp. 19–31. https://doi.org/10.1002/cyto.a.23242

3. Dominici M., le Blanc K., Mueller I., Slaper-Cortenbach I., Marini F. C., Krause D. S., Deans R. J., Keating A., Prockop D. J., Horwitz E. M. Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy position statement. *Cytotherapy*, 2006, vol. 8, no. 4, pp. 315–317. https://doi.org/10.1080/14653240600855905

4. Heo J. S., Choi Y., Kim H. S., Kim H. O. Comparison of molecular profiles of human mesenchymal stem cells derived from bone marrow, umbilical cord blood, placenta and adipose tissue. *International Journal of Molecular Medicine*, 2016, vol. 37, no. 1, pp. 115–125. https://doi.org/10.3892/ijmm.2015.2413

5. Bernardo M. E., Emons J. A. M., Karperien M., Nauta A. J., Willemze R., Roelofs H. [et al.]. Human mesenchymal stem cells derived from bone marrow display a better chondrogenic differentiation compared with other sources. *Journal Connective Tissue Research*, 2007, vol. 48, no. 3, pp. 132–140. https://doi.org/10.1080/03008200701228464

6. Hsu Sh., Huang T., Cheng Sh., Weng S. Y., Tsai Ch. L., Tseng Ch. Sh., Chen D. Ch., Liu T. Y., Fu K. Y., Yen B. L. Chondrogenesis from human placenta-derived mesenchymal stem cells in three-dimensional scaffolds for cartilage tissue engineering. *Tissue Engineering. Part A*, 2011, vol. 17, no. 11–12, pp. 1549–1560. https://doi.org/10.1089/ten.tea.2010.0419

7. Beeravolu N., Khan I., McKee C., Dinda S., Thibodeau B., Wilson G., Perez-Cruet M., Bahado-Singh R., Chaudhry G. R. Isolation and comparative analysis of potential stem/progenitor cells from different regions of human umbilical cord. *Stem Cell Research*, 2016, vol. 16, no. 3, pp. 696–711. https://doi.org/10.1016/j.scr.2016.04.010

8. Kock L., van Donkelaar C. C., Ito K. Tissue engineering of functional articular cartilage: the current status. *Cell and Tissue Research*, 2012, vol. 347, no. 3, pp. 613–627. https://doi.org/10.1007/s00441-011-1243-1

9. Muraglia A., Cancedda R., Quarto R. Clonal mesenchymal progenitors from human bone marrow differentiate *in vitro* according to a hierarchical model. *Journal of Cell Science*, 2000, vol. 113, pt. 7, pp. 1161–1166.

10. Russell K. C., Phinney D. G., Lacey M. R., Barrilleaux B. L., Meyertholen K. E., O'Connor K. C. *In vitro* high-capacity assay to quantify the clonal heterogeneity in trilineage potential of mesenchymal stem cells reveals a complex hierarchy of lineage commitment. *Stem Cells*, 2010, vol. 28, no. 4, pp. 788–798. https://doi.org/10.1002/stem.312

11. Kim Y. H., Yoon D. S., Kim H. O., Lee J. W. Characterization of different subpopulations from bone marrow-derived mesenchymal stromal cells by alkaline phosphatase expression. *Stem Cells and Development*, 2012, vol. 21, no. 16, pp. 2958–2968. https://doi.org/10.1089/scd.2011.0349

12. Martinez E. F., Herdy da Silva L. A., Furuse Cr., Soares de Araújo N., Cavalcanti de Araújo V. Dentin matrix protein 1 (DMP1) expression in developing human teeth. *Brazilian Dental Journal*, 2009, vol. 20, no. 5, pp. 365–369. http://dx.doi.org/10.1590/S0103-64402009000500002]

13. Kamilov F. Kh., Farshatova E. R., Enikeev D. A. Cell-molecular mechanisms of bone tissue remodeling and its regulation. *Fundamental'nye issledovaniya* [Fundamental research], 2014, no. 7-4, pp. 836–842 (in Russian).

14. Hutchings G., Moncrieff L., Dompe C., Janowicz K., Sibiak R., Bryja A. [et al.]. Bone regeneration, reconstruction and use of osteogenic cells from basic knowledge, animal models to clinical trials. *Journal of Clinical Medicine*, 2020, vol. 9, no. 1, pii E139. https://doi.org/10.3390/jcm9010139

15. Lee M. H., Javed A., Kim H. J., Shin H. I., Gutierrez S., Choi J. Y. [et al.]. Transient upregulation of CBFA1 in response to bone morphogenetic protein-2 and transforming growth factor beta1 in C2C12 myogenic cells coincides with suppression of the myogenic phenotype but is not suffcient for osteoblast differentiation. *Journal of Cellular Biochemistry,* 1999, vol. 73, no. 1, pp. 114–125. https://doi.org/10.1002/(sici)1097-4644(19990401)73:1<114::aid-jcb13>3.0.co;2-m

Информация об авторах

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

Исайкина Янина Ивановна – канд. биол. наук, заведующий лабораторией. Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии (ул. Фрунзенская, 43, 223053, д. Боровляны, Минский р-н, Республика Беларусь). E-mail: yaninai@mail.ru

Филипович Татьяна Валерьевна – мл. науч. сотрудник. Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии (ул. Фрунзенская, 43, 223053, д. Боровляны, Минский р-н, Республика Беларусь). E-mail:tatianafilipovich95@gmail.com

Лях Елена Геннадьевна – науч. сотрудник. Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии (ул. Фрунзенская, 43, 223053, д. Боровляны, Минский р-н, Республика Беларусь). E-mail: lyakchelena@gmail.com

Information about the authors

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

Yanina I. Isaikina – Ph. D. (Biol.), Head of the Laboratory. Republican Research Center for Pediatric Oncology, Hematology and Immunology (43, Frunzenskaya Str., 223053, v. Borovliany, Minsk Region, Republic of Belarus). E-mail: yaninai@mail.ru

Tatiana V. Filipovich – Junior Researcher. Republican Research Center for Pediatric Oncology, Hematology and Immunology (43, Frunzenskaya Str., 223053, v. Borovliany, Minsk Region, Republic of Belarus). E-mail: tatianafilipovich95@gmail.com

Elena G. Liakh – Researcher. Republican Research Center for Pediatric Oncology, Hematology and Immunology (43, Frunzenskaya Str., 223053, v. Borovliany, Minsk Region, Republic of Belarus). E-mail: lyakchelena@gmail.com

ISSN 1814-6023 (Print)
ISSN 2524-2350 (Online)
УДК 577.112+577.322+ 577.346
https://doi.org/10.29235/1814-6023-2021-18-1-46-57

Поступила в редакцию 16.03.2020
Received 16.03.2020

В. В. Побойнев[1], В. В. Хрусталев[1], А. Н. Стожаров[1], Т. А. Хрусталева[2]

[1]Белорусский государственный медицинский университет, Минск, Республика Беларусь
[2]Институт физиологии НАН Беларуси, Минск, Республика Беларусь

САЙТЫ СВЯЗЫВАНИЯ БИЛИРУБИНА СЫВОРОТОЧНЫМ АЛЬБУМИНОМ ЧЕЛОВЕКА: ВОЗМОЖНОСТЬ ВЛИЯНИЯ НА НИХ МУТАЦИЙ, ВЫЗВАННЫХ РАДИАЦИЕЙ

Аннотация. В статье проанализированы сайты связывания билирубина сывороточным альбумином человека с точки зрения нестабильности вторичной структуры, а также изучено влияние известных аминокислотных замен, вызванных радиационным воздействием, на способность альбумина связывать билирубин. Расчеты энергии связывания и констант ингибирования комплексов билирубина с альбумином до и после аминокислотных замен показали, что аминокислотные замены по-разному влияют на способность связывать билирубин сывороточным альбумином человека. Аминокислотные замены Asp269-Gly269 (Nagasaki-1), Glu354-Lys354 (Hiroshima-1), Asp375-Asn375 (Nagasaki-2) уменьшают свободную энергию связывания билирубина сывороточным альбумином человека, а аминокислотные замены His3-Gln3 (Nagasaki-3) и Glu382-Lys382 (Hiroshima-2) повышают ее по результатам молекулярного докинга с соответствующими участками поверхности белка. Константы ингибирования при этом значительно выше, чем с известными сайтами связывания. В целом же рассмотренные мутации, вызванные радиационным воздействием, не могут влиять на наиболее специфичные известные сайты связывания билирубина сывороточным альбумином человека, так как аминокислотные остатки, которые подвергаются заменам, не взаимодействуют с аминокислотными остатками этих сайтов связывания (Leu115, Arg117, Phe134, Tyr138, Ile142, Phe149, Phe157, Tyr161, Arg186, Lys190, Lys240, Arg222). Все аминокислотные остатки известных сайтов связывания располагаются в стабильных элементах вторичной структуры сывороточного альбумина человека.

Полученные данные важны для понимая влияния радиационного воздействия на развитие билирубиновой энцефалопатии у жителей стран, пострадавших от аварии на Чернобыльской атомной электростанции, и у жителей Японии.

Ключевые слова: сывороточный альбумин человека, билирубин, радиационное воздействие, аминокислотные замены, билирубиновая энцефалопатия, сайты связывания

Для цитирования: Сайты связывания билирубина сывороточным альбумином человека: возможность влияния на них мутаций, вызванных радиацией / В. В. Побойнев [и др.] // Вес. Нац. акад. навук Беларусі. Сер. мед. навук. – 2021. – Т. 18, № 1. – С. 46–57. https://doi.org/10.29235/1814-6023-2021-18-1-46-57

Victor V. Poboinev[1], Vladislav V. Khrustalev[1], Aliaksandr N. Stojarov[1], Tatyana A. Khrustaleva[2]

[1]Belarusian State Medical University, Minsk, Republic of Belarus
[2]Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus

INFLUENCE OF MUTATIONS CAUSED BY RADIATION EXPOSURE ON THE BILIRUBIN BINDING SITES OF HUMAN SERUM ALBUMIN

Abstract. In this article we analyze the bilirubin binding sites of human serum albumin from the point of view of the secondary structure instability, as well as the effect of amino acid substitutions caused by radiation exposure on the ability of albumin to bind bilirubin-IX-alpha. Based on calculations of binding energy and inhibition constants of bilirubin-albumin complexes before and after the amino acid substitutions, it was found that amino acid substitutions have different effects on the ability of human serum albumin to bind bilirubin. Amino acid substitutions Asp269-Gly269 (Nagasaki-1), Glu354-Lys354 (Hiroshima-1), Asp375-Asn375 (Nagasaki-2) reduce the binding free energy of bilirubin with human serum albumin, and the amino acid substitutions His3-Gln3 (Nagasaki-3) and Glu382-Lys382 (Hiroshima-2) increase it during molecular docking with the corresponding areas of the protein surface. The inhibition constants are significantly higher than with known binding sites. In general, mutations caused by radiation exposure cannot effect on bilirubin binding sites of human serum albumin, since the amino acid residues that are replaced do not interact with the amino acid residues from the binding sites (Leu115, Arg117, Phe134, Tyr138, Ile142, Phe149, Phe157, Tyr161, Arg186, Lys190, Lys240, Arg222). All amino acid residues from known binding sites are located in stable elements of the secondary structure of human serum albumin.

The data obtained are important for understanding the impact of radiation exposure on the development of bilirubin encephalopathy in the population of the Chernobyl region and Japan.

Keywords: human serum albumin, bilirubin, radiation exposure, amino acid substitutions, bilirubin encephalopathy, binding sites

For citation: Poboinev V. V., Khrustalev V. V., Stojarov A. N., Khrustaleva T. A. Influence of mutations caused by radiation exposure on the bilirubin binding sites of human serum albumin. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seriya meditsinskikh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2021, vol. 18, no. 1, pp. 46–57 (in Russian). https://doi.org/10.29235/1814-6023-2021-18-1-46-57

Введение. Сывороточный альбумин человека (HSA) является наиболее распространенным циркулирующим белком плазмы крови. Поскольку концентрация альбумина высока, а размеры его невелики, то этот белок на 70 % определяет коллоидно-осмотическое давление плазмы [1]. Общая площадь поверхности множества мелких молекул сывороточного альбумина очень велика, поэтому данный белок выполняет функции переносчика многих веществ. К веществам, связываемым сывороточным альбумином, относятся билирубин, уробилин, жирные кислоты, тироксин и другие эндогенные, а также многочисленные экзогенные вещества. Конкуренция между веществами за сайты связывания на молекуле альбумина может вызвать увеличение концентрации в свободном виде одного из них, что влияет на его физиологическое/патологическое действие. Сывороточный альбумин человека состоит из трех гомологичных доменов, каждый из которых включает два субдомена (A и B), обладающих общими структурными мотивами [2, 3]. Каждый домен альбумина состоит из 10 альфа-спиралей, 6 из которых формируют субдомен A, а 4 – субдомен B [3].

Около 75–85 % билирубина у новорожденных образуется при распаде гемоглобина эритроцитов, остальные 15–25 % поступают из неэритроцитарного гема. Разрушение эритроцитов происходит в ретикуло-эндотелиальной системе. Образующийся при этом гемоглобин связывается с плазменными белками, образуя комплексы, которые вновь захватываются клетками моноцитарно-макрофагальной системы. Далее под влиянием гемоксигеназы из гема образуется вердогемоглобин. Затем от него отщепляется железо и образуется биливердин, а из биливердина, под влиянием биливердинредуктаз, – свободный билирубин (в виде нескольких изомеров – IX-α, -β, -γ, -δ). Клиническое значение имеет билирубин IX-α. Билирубин IX-α существует в свободном виде очень короткое время, так как связывается с белками плазмы (чаще с альбумином) в сосудистом русле. Это соединение билирубина и альбумина представляет собой крупное образование, которому трудно покинуть сосудистое русло. Поэтому он значительно менее токсичен, не проникает в мозг и не вызывает билирубиновую энцефалопатию. Одна молекула альбумина связывает две молекулы билирубина, а 1 г альбумина прочно связывает 14,4 мкмоль билирубина [4]. В норме в крови новорожденного 99 % билирубина связано с альбумином и только 1 % находится в свободном виде [4]. При некоторых патологических состояниях (недоношенность, незрелость, гипопротеинемия, асфиксия) уровень не связанного с альбумином билирубина может повышаться [4]. Свободный билирубин может пересекать гематоэнцефалический барьер и вызывать ядерную желтуху (билирубиновую энцефалопатию). У недоношенных детей ядерная желтуха может не иметь выраженных клинических симптомов или признаков. Ранними симптомами ядерной желтухи у доношенных новорожденных являются вялость, плохой аппетит и рвота. Могут развиться опистотонус, парез взора, судороги и даже возможен летальный исход. Ядерная желтуха может привести к умственной отсталости, хореоатетоидному ДЦП, нейросенсорной тугоухости, а позднее – к параличу взгляда вверх.

Кроме конкуренции между разными веществами за сайты связывания концентрация билирубина может повышаться и из-за изменения структуры самих сайтов связывания, причиной чего могут быть аминокислотные замены, возникающие по целому ряду причин. В Республике Беларусь и других странах, пострадавших от аварии на Чернобыльской атомной электростанции, и в Японии, пострадавшей от взрывов атомных бомб в Нагасаки и Хиросиме и от аварии на АЭС «Фукусима-1», актуальными остаются вопросы влияния радиации на здоровье человека, поэтому нами уделено особое внимание нескольким известным аминокислотным заменам, произошедшим в сывороточном альбумине человека (по данным [5], именно при радиационном воздействии), и их возможным последствиям.

Материалы и методы исследования. Материалом для исследования послужили 104 рентгенологические структуры, содержащие информацию о сывороточном альбумине человека как в чистом виде, так и в комбинации с различными лигандами (табл. 1) из Protein Data Bank (www.pdb.org).

Таблица 1. **3D структуры сывороточного альбумина человека с различными лигандами**

Table 1. **3D structures of human serum albumin with different ligands**

PDB-идентификатор	Разрешение, Å	Лиганд	PDB-идентификатор	Разрешение, Å	Лиганд
1AO6	2,5	–	2XW0	2,4	Дансил-L-фенилаланин
1BJ5	2,5	Миристиновая кислота	2XW1	2,5	Дансил-L-норвалин
1BKE	3,15	Миристиновая кислота и 3-йодобензойная кислота	2YDF	2,75	Ионофеноксиновая кислота
1BM0	2,5	–	3A73	2,19	Дельта 12 простагландин J2
1E7A	2,2	Пропофол	3B9L	2,6	Миристат и зидовудин
1E7B	2,38	Галотан	3B9M	2,7	Зидовудин и салициловая кислота
1E7C	2,4	Миристиновая кислота и галотан	3CX9	2,8	Миристиновая кислота и лизофосфатидилэтаноламин
1E7E	2,5	Декановая кислота	3JQZ	3,3	Лидокаин
1E7F	2,43	Додекановая кислота	3JRY	2,3	Сульфат ионы
1E7G	2,5	Миристиновая кислота	3LU6	2,7	IMX
1E7H	2,43	Пальмитиновая кислота	3LU7	2,8	IPX и фосфат ионы
1E7I	2,7	Стеариновая кислота	3LU8	2,6	IQX
1E78	2,6	–	3SQJ	2,05	Миристиновая кислота
1GNI	2,4	Олеиновая кислота	3TDL	2,6	Миристиновая кислота и DAUDA
1GNJ	2,6	Арахидоновая кислота	3UIV	2,2	Миристат-амантадин гидрохлорид
1H9Z	2,5	Миристиновая кислота и R энантиомер варфарина	4BKE	2,35	Пальмитиновая кислота
1HA2	2,5	Миристиновая кислота и S энантиомер варфарина	4E99	2,3	Перфтороктансульфоновая кислота
1HK1	2,65	Тироксин	4EMX	2,3	Хлорид ионы
1HK2	2,8	Тироксин	4G03	2,22	–
1HK3	2,8	Тироксин	4G04	2,3	–
1HK4	2,4	Тироксин и миристиновая кислота	4HGK	3,04	Антитело
1HK5	2,7	Тироксин и миристиновая кислота	4HGM	2,34	Антитело
1N5U	1,9	Гем	4IW1	2,56	Фруктоза и фосфат ионы
1O9X	3,2	Миристиновая кислота и гемин	4IW2	2,41	Глюкоза, декстроза и фосфат ионы
1TF0	2,7	Декановая кислота и лимонная кислота	4K2C	3,23	–
2BX8	2,7	Азапрапазон	4K71	2,4	Сульфат-ионы
2BXA	2,35	3-карбокси-4-метил-5-пропил-2-фурапропионовая кислота	4L8U	2,01	9-амино камптотецин и миристиновая кислота
2BXB	3,2	Оксифенбутазон	4L9K	2,4	Камптотецин
2BXC	3,1	Фенилбутазон	4L9Q	2,7	Тенипозид
2BXD	3,05	Варфарин	4LA0	2,4	Бикалутамид
2BXE	2,95	Дифлунизал	4LB2	2,8	Идарубицин
2BXF	2,95	Диазепам	4LB9	2,7	Этопозид
2BXG	2,7	Ибупрофен	4N0F	3,02	Человеческие FcRn
2BXH	2,25	Индоксил сульфат	4N0U	3,8	Неонатальный Fc-рецептор и Fc
2BXI	2,5	Миристат, азапропазон	4S1Y	3,16	Цисплатин
2BXK	2,4	Миристат, азапропазон и индометацин	4Z69	2,19	Пальмитиновая кислота и диклофенак
2BXL	2,6	Миристат и салициловая кислота	5FUO	3,6	Fab-фрагмент
2BXM	2,5	Миристат и индометацин	5GIX	2,8	Пальмитиновая кислота – $Fe(Hn3piT)Cl_2$
2BXN	2,65	Миристат и йодипамид	5GIY	2,54	Пальмитиновая кислота – $[RuCl_5(ind)]^{2-}$

Окончание табл. 1

PDB-идентификатор	Разрешение, Å	Лиганд	PDB-идентификатор	Разрешение, Å	Лиганд
2BXO	2,6	Миристат и оксифенбутазон	5ID7	2,26	Фосфородитиоат миристоилциклической фосфатидной кислоты
2BXP	2,3	Миристат и фенилбутазон	5IFO	3,2	KP1019
2BXQ	2,6	Миристат, фенилбутазон и индометацин	5IJF	2,65	Катионы цинка
2I2Z	2,7	Миристат и аспирин	5UJB	2,7	Mcl-1 ингибитор
2I30	2,9	Миристат и салициловая кислота	5VNW	2,6	Nb.b201
2VDB	2,52	S-напроксен и декановая кислота	5X52	3,0	Октаноат и N-ацетил-L-метионин
2VUE	2,42	Билирубин	5YB1	2,62	Пальмитиновая кислота и Cu(II)-препарат
2VUF	3,05	Фузидовая кислота	5YOQ	2,65	4-фенилбутират натрия
2XSI	2,7	Дансил-L-глутамат и миристиновая кислота	5Z0B	2,17	Линолевая кислота, октановая кислота, триптофан, сульфат ионы
2XVQ	2,9	Дансил-L-саркозин	6A7P	2,28	Арипипразол
2XVU	2,6	Дансил-L-аспарагин	6EZQ	2,39	NBD-аминододекановая кислота
2XVV	2,4	Дансил-L-аспарагин и миристиновая кислота	6JE7	3,9	–
2XVW	2,65	Дансил-L-аргинин и миристиновая кислота	1UOR	2,8	–

Элементы вторичной структуры сывороточного альбумина человека определяли с помощью алгоритма DSSP (Dictionary of Secondary Structure of Proteins – словарь вторичной структуры белка), т. е. данный алгоритм не предсказывает, а именно устанавливает конкретные элементы вторичной структуры, основываясь на возможности формирования водородных связей между атомами аминокислотных остатков главных цепей (www.swift.cmbi.umcn.nl/gv/dssp). Если аминокислота во всех структурах входила в состав альфа-спирали, мы считали ее альфа-спиральной, если в состав бета-тяжа – бета-структурной. Все фрагменты полипептидной цепи, не образующие альфа-спирали и бета-тяжи, классифицировались как «петля» (C – random coil). Если данные о вторичной структуре для аминокислоты отсутствовали, аминокислоту обозначали «0» и считали ее структурно неустойчивой. С помощью алгоритма DSSP определяли и доступность сольвенту каждой аминокислоты сывороточного альбумина человека.

При рассмотрении структурной неустойчивости было выделено несколько вариантов структурного состояния для конкретной аминокислоты: альфа-спираль/петля (HC), петля/неструктурированная область (C0), альфа-спираль/неструктурированная область (H0) и альфа-спираль/петля/неструктурированная область (HC0). HC – вариант структурной нестабильности, при котором аминокислота находится в составе альфа-спирали на одной структуре белка и в петле на другой структуре белка; H0 – вариант структурной нестабильности, при котором аминокислота находится или в альфа-спирали, или и в неструктурированной области белка; C0 – вариант структурной нестабильности, при котором аминокислота находится в петле или в неструктурированной области белка; HC0 – вариант структурной нестабильности, при котором аминокислота находится или в альфа-спирали, или в петле, или в неструктурированном участке белка. Минимальный процент сходства между структурами полноразмерного сывороточного альбумина составил 95,07 %. Неструктурированная область белка – участок белка с отсутствующей электронной плотностью на 3D модели белка.

Стабильность вторичной структуры сывороточного альбумина человека определяли с помощью оригинального алгоритма PentaFold 2.0 [6].

На основании аминокислотной последовательности структуры сывороточного альбумина человека, не содержащей никаких лигандов (4K2C), были получены модели трехмерного строения белков, содержащих одну из пяти мутаций, вызванных радиационным воздействием, с по-

мощью сервера SWISS MODEL (https://swissmodel.expasy.org/). В качестве шаблона для построения модели модифицированных белков была выбрана структура 4BKE, третичная структура которой на 99 % идентична исследуемой. Таким образом, получили пять модифицированных 3D структур с одной из пяти известных на сегодняшний день аминокислотных замен, обнаруженных при исследовании детского населения городов Хиросима и Нагасаки: His3-Gln3 (Nagasaki-3), Asp269-Gly269 (Nagasaki-1), Glu354-Lys354 (Hiroshima-1), Asp375-Asn375 (Nagasaki-2), Glu382-Lys382 (Hiroshima-2) [5].

Информация о структуре билирубина (bilirubin-IX alpha) была взята из базы данных PubChem [7]. Для проведения докинга билирубина со структурой как нативного, так и модифицированного сывороточного альбумина человека использовали Molecular Docking server [8]. Для определения свободной энергии связывания билирубина с альбумином в качестве связывателей использовали те аминокислотные остатки, которые взаимодействуют с билирубином на единственной трехмерной структуре, представляющей собой комплекс данных веществ – 2VUE [9]. Для определения влияния аминокислотной замены на способность связывать билирубин в качестве основного связывателя выбирали только ту аминокислоту, которая подвергается замене. В результате были получены значения энергии связывания как до, так и после аминокислотной замены.

Для определения характера взаимодействия между молекулами билирубина и сывороточного альбумина использовали алгоритм PLIP [10].

Результаты исследования. Сывороточный альбумин состоит из единственной полипептидной цепи из 585 аминокислот. Это высокозаряженный белок без гликозилированных остатков, но с 17 дисульфидными мостиками и одним свободным цистеином. Изоэлектрическая точка альбумина равна 5,47. Сывороточный альбумин человека относится к белкам альфа-спирального класса [11], так как его вторичная структура представлена исключительно альфа-спиралями и койлом.

С точки зрения стабильности вторичной структуры данный белок является структурно неустойчивым, так как в нестабильных элементах вторичной структуры находится 60,417 % аминокислотных остатков, а в стабильных альфа-спиралях и стабильном койле – лишь 26,415 и 13,368 % соответственно. В сывороточном альбумине человека преобладает структурная неустойчивость типа НС (41,319 %). Структурная неустойчивость типа НС0 составляет 11,632 %, С0 – 5,035, Н0 – 2,431 %. Данные получены в результате анализа всех 3D структур, содержащих информацию о вторичной структуре сывороточного альбумина человека. Анализ структуры 4K2C с помощью алгоритма PentaFold 2.0 показал нестабильность вторичной структуры альбумина (рис. 1). Большинство альфа-спиралей являются метастабильными или нестабильными, и лишь несколько содержат стабильное ядро. То есть большое влияние на стабильность альфа-спиралей оказывает не столько аминокислотный состав той или иной альфа-спирали, сколько формирование блоков взаимодействующих альфа-спиралей [11]. Структурную неустойчивость же сывороточного альбумина можно объяснить с точки зрения его транспортной функции для многих эндо- и экзогенных веществ.



Рис. 1. Нестабильность вторичной структуры сывороточного альбумина человека (3D структура 4K2C). Зеленым обозначены стабильные элементы вторичной структуры, красным – нестабильные, желтым – метастабильные

Fig. 1. Secondary structure instability of human serum albumin (3D model – 4K2C). Green color indicates stable elements of the secondary structure, red color indicates unstable elements, yellow color indicates metastable elements

Среди всех изученных 104 структур альбумина лишь одна представляет собой комплекс альбумина с билирубином (2VUE). Это 3D модель, в которой показан так называемый гидрофобный карман, являющийся единственным

хорошо описанным сайтом связывания билирубина [9]. С помощью алгоритма PLIP было установлено, что аминокислотные остатки альбумина с билирубином образуют следующие типы взаимодействий: гидрофобные взаимодействия с Leu115, Phe134, Tyr138, Ile142, Phe149, Phe157, Tyr161, Arg186; водородные связи с Tyr138, Tyr161; катион-пи взаимодействие с Arg186 и солевые мостики с Arg117, Arg186, Lys190. То есть билирубин связывается исключительно с аминокислотными остатками из первого домена [3]. Данный сайт связывания билирубина находится в стабильной области белка: Leu115, Arg117, Phe149 – в стабильном койле; Phe134, Tyr138, Ile142, Phe157, Tyr161, Arg186 и Lys190 – в стабильных альфа-спиралях.

Из литературных данных известно, что билирубин может связываться и с Lys240 [12], и с Arg222 [13]. Lys240 и Arg222 также находятся в стабильных альфа-спиралях. Уровень доступности сольвенту данных аминокислот составляет 98 и 26 соответственно, при этом для двух аминокислот характерен длинный радикал. С помощью докинга молекулы билирубина с аминокислотами из первого сайта связывания (рис. 2, *a*) и с лизином 240 (рис. 2, *c*) нами были получены следующие значения свободной энергии связывания: –4,61 и –2,44 ккал/моль соответственно. То есть первый сайт связывания, который описан по результатам рентгеноструктурного анализа, является более предпочтительным, чем второй. В пользу специфичности первого сайта по сравнению со вторым свидетельствует тот факт, что константа ингибирования (Ki) составляет для него 417,38 мкмоль/л, а для второго сайта связывания – 16,31 ммоль/л.

Неожиданные результаты были получены нами после докинга билирубина с третьим сайтом связывания. Неожиданность заключалась в том, что 3D модели в PDB альбумина с билирубином в данном сайте связывания на сегодняшний день нет, а область, в которой расположен Arg222 (рис. 2, *b*), является еще более специфичной для билирубина: свободная энергия связывания равна –5,39 ккал/моль, а константа ингибирования (Ki) составляет 112,33 мкмоль/л. Кроме Arg222 билирубин связывается также с Lys444, Ala291, Val293 (гидрофобные взаимодействия), Asn295, Arg218, Asp451, Lys199 (полярные взаимодействия), а с Glu294, Lys195, Glu292 он образует другие типы взаимодействий.

Сайт связывания билирубина с Arg222 интересен еще и тем, что Arg222 расположен недалеко (на расстоянии 8,44 Å) от единственного остатка триптофана в сывороточном альбумине человека (рис. 3, *a*). Рядом с Arg222 находится и Arg218, который также может участвовать в связывании билирубина. При этом Arg218 расположен еще ближе к триптофану – на расстоянии 7,77 Å (рис. 3, *b*). Такая близость двух положительно заряженных аминокислотных остатков к единственному флуорофору заставляет предположить, что у комплекса билирубина с альбумином максимумы на спектре флуоресценции триптофана будут смещены, а также изменится квантовый выход флуоресценции как в обычных условиях, так и при изменении температуры.

Все аминокислотные замены, вызванные радиационным воздействием, находятся в нестабильной области белка. Чтобы определить влияние данных аминокислотных замен на связывание

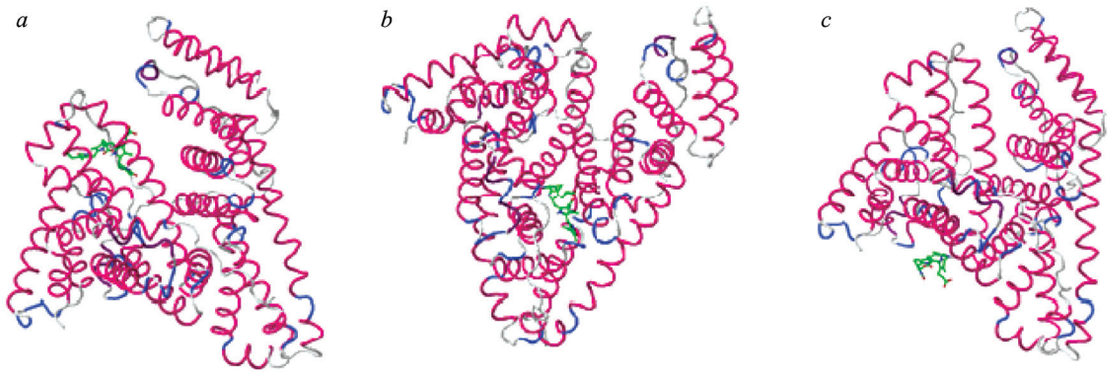


Рис. 2. Сайты связывания билирубина IX-α на сывороточном альбумине человека (4K2C): *a* – первый сайт связывания, *b* – сайт связывания с Arg222, *c* – сайт связывания с Lys240

Fig. 2. Bilirubin IX-α binding sites on human serum albumin (4K2C): *a* – the first binding site, *b* – the binding site with Arg222, *c* – the binding site with Lys240

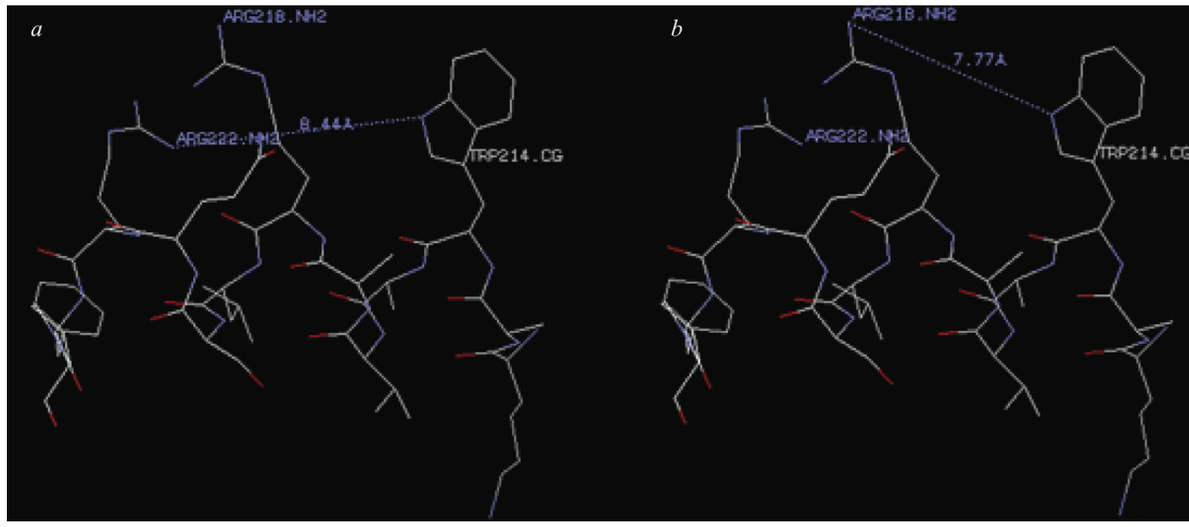


Рис. 3. Третичная структура фрагмента сывороточного альбумина человека 212–224: *a* – взаимное расположение Arg222 и Trp214; *b* – взаимное расположение Arg218 и Trp214

Fig. 3. Tertiary structure of the human serum albumin fragment 212–224: *a* – the mutual location of Arg222 and Trp214; *b* – the mutual location of Arg218 and Trp214

билирубина были изучены все возможные взаимодействия данных аминокислот как в мономере белка, так и в его тримере (структура 5Z0B). В тримере между цепями образуются следующие виды водородных связей между главной и боковой цепями: Gln170 цепи A с Lys439 цепи C; Glu280 цепи A с Pro299 и Ala300 цепи C; Glu442 цепи A с Glu266 цепи B; Asp301, Leu302 цепи C с Glu280 цепи A; Glu396 цепи C с His128 цепи A; Lys439 цепи C с Cys169 цепи A; His440 цепи C с Gln170 цепи A; между радикалами аминокислот: Lys162 цепи A с Glu442 цепи C; Gln170 цепи A с His440 цепи C; Glu442 цепи B с Glu266 цепи C; Arg445 цепи C с Glu131 цепи A; ионные взаимодействия: Arg445 цепи C с Glu131 цепи A; Glu132 цепи A с Lys389 цепи C; Lys162 цепи A с Glu442 цепи C; Lys389 цепи B с Glu266 цепи C; Lys439 цепей A и B с Glu280 цепей B и C; His440 цепей A и B с Glu280 цепей B и C; Glu442 цепей A и B с Lys262 цепей B и C; Lys444 и Lys560 цепи B с Glu280 и Asp129 цепи C.

Аминокислотная замена Asp269-Gly269 приводит к снижению отрицательного заряда, так как аспарагиновая кислота меняется на нейтральный глицин. В результате модифицированный альбумин приобретает большую способность к связыванию билирубина в данном районе белка. Если с областью нативного альбумина, в которой расположена Asp269, свободная энергия связывания составляет –0,76 ккал/моль, то со структурой, содержащей мутацию Asp269-Gly269, она равняется –1,52 ккал/моль. Константа ингибирования при этом уменьшается более чем в 3 раза (табл. 2).

Ни Asp269, ни Gly269 взаимодействий с аминокислотами из известных ранее сайтов связывания билирубина не образуют (табл. 3), поэтому замена данной аминокислоты не может влиять на структуру известных сайтов связывания.

Таблица 2. **Свободная энергия связывания и константа ингибирования комплексов альбумина с билирубином до и после аминокислотной замены, вызванной радиационным воздействием**

Table 2. **Binding free energy and inhibition constant of the complexes of albumin with bilirubin before and after amino acid replacement caused by radiation exposure**

Мутация	Свободная энергия связывания, ккал/моль		Константа ингибирования, ммоль/л	
	до мутации	после мутации	до мутации	после мутации
His3–Gln3 (Nagasaki-3)	–2,76	–2,56	9,51	13,40
Asp269–Gly269 (Nagasaki-1)	–0,76	–1,52	279,54	77,23
Glu354–Lys354 (Hiroshima-1)	–1,89	–3,17	41,12	4,73
Asp375–Asn375 (Nagasaki-2)	–1,37	–1,97	99,85	36,09
Glu382–Lys382 (Hiroshima-2)	–2,44	–1,95	16,16	37,15

Таблица 3. **Аминокислотные остатки, с которыми формирует связи билирубин до и после мутации Asp269-Gly269**

Table 3. **Amino acid residues, with which bilirubin binds before and after the Asp269-Gly269 mutation**

Показатель	Энергия взаимодействия, ккал/моль	
	до мутации	после мутации
Водородные связи	ASP269 (–1,4522)	LYS225 (–0,6501)
	SER270 (–1,1318)	
Полярные взаимодействия		GLN268 (–1,3528)
		LYS276 (–0,9818)
Другие типы взаимодействий	LYS225 (–1,0146)	SER273 (–1,2087)
	GLU227 (–0,6558)	

Следует отметить, что после возникновения аминокислотной замены билирубин начинает взаимодействовать с аминокислотными остатками, с которыми ранее связи не формировал, что может быть вызвано локальными изменениями пространственного расположения атомов сближенных аминокислот. Этот факт можно объяснить как локальным изменением заряда, так и механически – аспарагиновая кислота имеет более длинный радикал.

Аминокислотная замена Glu354-Lys354 также приводит к снижению отрицательного заряда области белка, в которой она располагается. Как и в предыдущем случае, в результате данной аминокислотной замены происходит снижение свободной энергии связывания и уменьшения константы ингибирования. По сравнению с предыдущей заменой константа ингибирования уменьшается в 8,69 раза. Ни Glu354, ни Lys354 не формируют никаких взаимодействий с аминокислотами из известных сайтов связывания билирубина, поэтому никак не могут влиять на его связывание (табл. 4).

Аминокислотная замена Asp375-Asn375 также приводит к снижению свободной энергии связывания альбумина с билирубином и к снижению константы ингибирования более чем в 2 раза. Как и две предыдущие аминокислотные замены, на структуру известного сайта связывания билирубина она повлиять не может (табл. 5).

Две другие аминокислотные замены иначе влияют на способность альбумина к связыванию билирубина. В результате аминокислотной замены His3-Gln3 константа ингибирования увеличивается в 1,41 раза (см. табл. 2), а в результате аминокислотной замены Glu382-Lys382 – в 2,30 раза (табл. 2). При этом ни His3, ни Gln3, ни Glu382, ни Lys382 (табл. 6, 7) взаимодействий с аминокислотами из известных сайтов связывания билирубина также не формируют.

Таблица 4. **Аминокислотные остатки, с которыми формирует связи билирубин до и после мутации Glu354-Lys354**

Table 4. **Amino acid residues, with which bilirubin binds before and after the Glu354-Lys354 mutation**

Показатель	Энергия взаимодействия, ккал/моль	
	до мутации	после мутации
Водородные связи	GLU354 (–0,4744)	–
Полярные взаимодействия	ARG209 (–2,3875)	ARG209 (–2,2961)
	LYS351 (–2,0627)	LYS354 (–1,5491)
		LYS351 (–1,3719)
Гидрофобные взаимодействия	LEU327 (–1,1239)	LEU327 (–0,5686)
	ALA210 (–0,6004)	ALA210 (–0,5026)
	ALA213 (–0,331)	ALA213 (–0,261)
Другие типы взаимодействий	ASP324 (–0,5652)	THR355 (–0,7654)
	LEU331 (–0,5535)	GLU358 (–0,63)
	GLU358 (–0,5169)	
	LYS323 (–0,4548)	
	ALA350 (–0,2893)	

Таблица 5. **Аминокислотные остатки, с которыми формирует связи билирубин до и после мутации Asp375-Asn375**

Table 5. **Amino acid residues, with which bilirubin binds before and after the Asp375-Asn375 mutation**

Показатель	Энергия взаимодействия, ккал/моль	
	до мутации	после мутации
Водородные связи	ALA371 (–0,4783)	PHE374 (–1,6853)
	TYR334 (–0,1313)	ASN375 (4,677)
Полярные взаимодействия	ASP375 (–2,121)	LYS372 (–1,2841)
	LYS378 (–1,0397)	–
Катион – π	PHE374 (–1,3573)	–
Гидрофобные взаимодействия	ALA306 (–0,208)	PHE377 (–0,916)
	VAL310 (–0,1848)	VAL381 (–0,4773)
Другие типы взаимодействий	LYS372 (–0,9853)	LYS378 (–5,4871)
	PHE377 (–0,5236)	PRO379 (–0,5251)
		TYR341 (–0,2967)

Таблица 6. **Аминокислотные остатки, с которыми формирует связи билирубин до и после мутации His3-Gln3**

Table 6. **Amino acid residues, with which bilirubin binds before and after the His3-Gln3 mutation**

Показатель	Энергия взаимодействия, ккал/моль	
	до мутации	после мутации
Водородные связи	ASP63 (–1,561)	GLN3 (–1,438)
		GLU6 (–1,0787)
Полярные взаимодействия	–	LYS4 (–1,4879)
	–	HIS9 (–0,4338)
Другие типы взаимодействий	LYS4 (–1,2474)	SER65 (–0,304)
	GLU6 (–0,4469)	
	SER65 (–0,2783)	

Таблица 7. **Аминокислотные остатки, с которыми формирует связи билирубин до и после мутации Glu382–Lys382**

Table 7. **Amino acid residues, with which bilirubin binds before and after the Glu382–Lys382 mutation**

Показатель	Энергия взаимодействия, ккал/моль	
	до мутации	после мутации
Водородные связи	GLU382 (–0,1526)	LYS382 (–2,3816)
		ASN386 (–1,2787)
		GLN385 (–1,0549)
Полярные взаимодействия	LYS378 (–2,7341)	–
	TYR334 (–0,1507)	–
Гидрофобные взаимодействия	VAL381 (–1,0535)	–
Другие типы взаимодействий	GLN385 (–0,4929)	LYS389 (–0,9332)
	TYR341 (–0,456)	GLU442 (–0,4624)

Таким образом, аминокислотные остатки, которые подвергаются заменам, не образуют взаимодействий с известными сайтами связывания билирубина как в его мономере, так и в его тримере, т. е. мутация в одной из цепей альбумина не может влиять на сайты связывания билирубина другой цепи.

Обсуждение. Известно пять аминокислотных замен в сывороточном альбумине, произошедших в японской популяции именно в результате радиационного воздействия. При этом ничего не известно о влиянии данных аминокислотных замен на вторичную структуру белка. Сывороточный альбумин человека является альфа-спиральным белком, поэтому приводим данные об аминокислотном (рис. 4) и пентапептидном составе (рис. 5) 100 негомологичных альфа-спиральных белков [11].

Так, в результате замены Asp269-Gly269 (Nagasaki-1), исходя из данных по 100 альфа-спиральным белкам, увеличивается вероятность перехода койла в полностью неструктурированное состояние (см. рис. 4).

Однако в результате данной замены пентапептид WWWWO переходит в WWOWO. На рис. 5 видно, что пентапептид WWWWO характерен для полностью неструктурированного состояния, а пентапептид WWOWO встречается во всех элементах вторичной структуры примерно с одинаковой частотой.

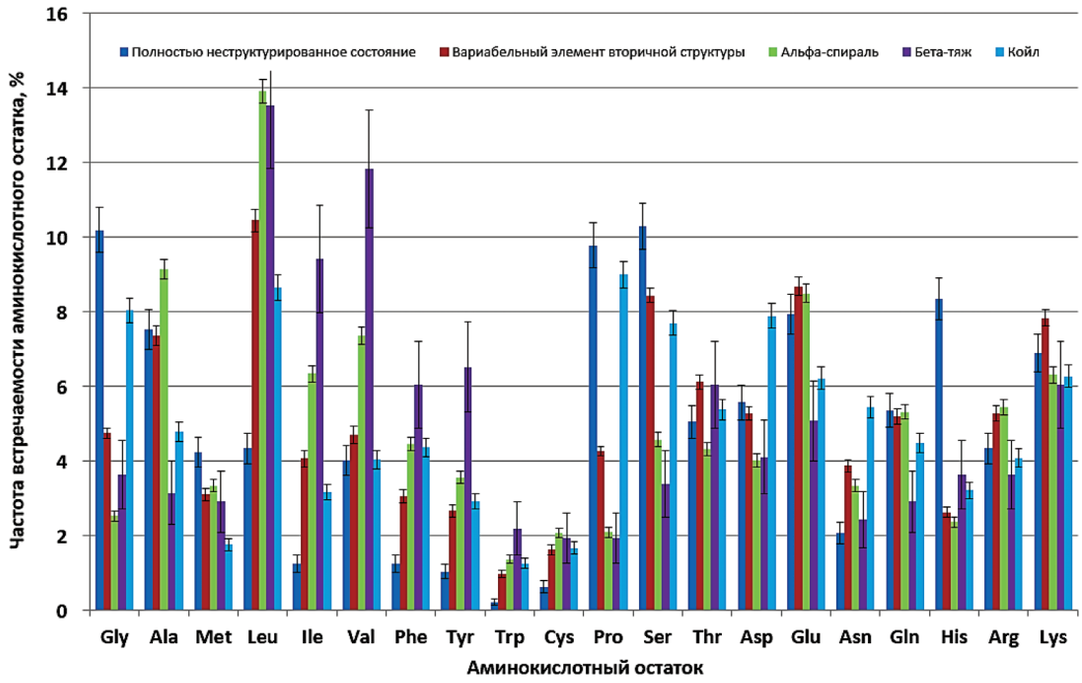


Рис. 4. Частота встречаемости аминокислотных остатков в элементах вторичной структуры альфа-спиральных белков

Fig. 4. Frequency of occurrence of amino acid residues in elements of the secondary structure of alpha-helical proteins

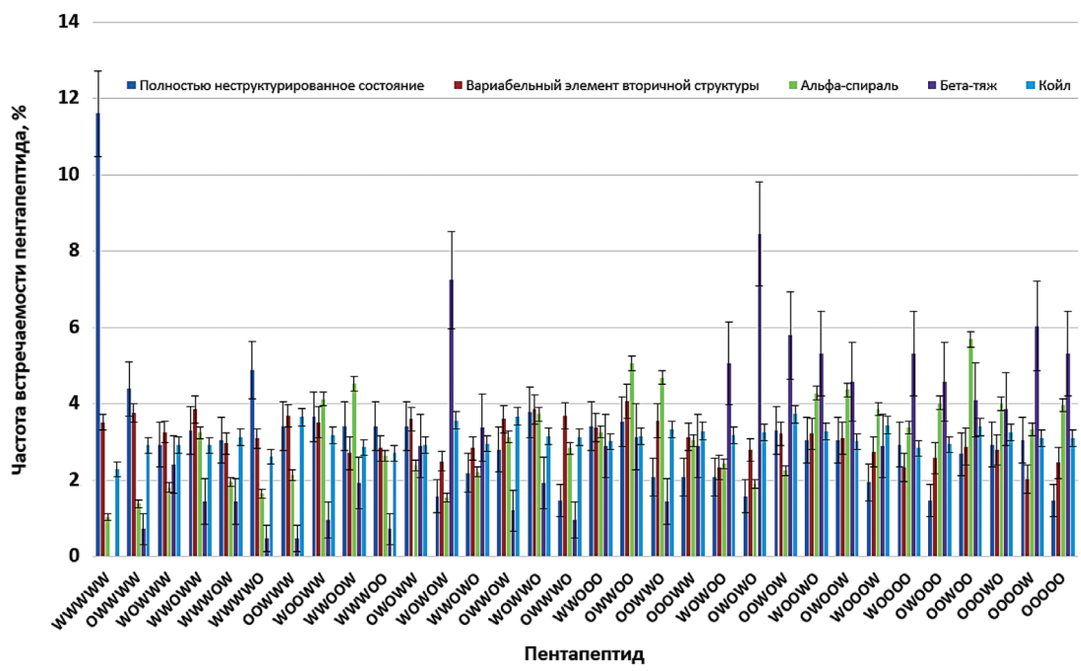


Рис. 5. Частота встречаемости пентапептидов в элементах вторичной структуры альфа-спиральных белков

Fig. 5. Frequency of occurrence of pentapeptides in elements of the secondary structure of alpha-helical proteins

При других аминокислотных заменах (His3-Gln3 (Nagasaki-3), Glu354-Lys354 (Hiroshima-1), Asp375-Asn375 (Nagasaki-2), Glu382-Lys382 (Hiroshima-2)) изменений в пентапептидном составе белка не происходит, так как гистидин, глутамин, глутаминовая кислота, лизин, аспарагиновая кислота и аспарагин являются гидрофильными аминокислотами.

При аминокислотных заменах Glu354-Lys354 и Glu382-Lys382 глутаминовая кислота переходит в лизин. Данные замены могут привести к стабилизации вторичной структуры, так как частота встречаемости глутаминовой кислоты достоверно выше в структурно изменчивом элементе вторичной структуры, чем в бета-тяжах и койле, а частота встречаемости лизина в различных элементах вторичной структуры альфа-спиральных белков не имеет достоверных различий (см. рис. 4). При аминокислотной замене Asp375-Asn375 (Nagasaki-2) существенных различий во вторичной структуре произойти не должно, так как и аспарагиновая кислота, и аспарагин достоверно чаще встречаются в койле.

Выводы

1. Сывороточный альбумин человека имеет несколько сайтов связывания билирубина, наиболее специфичными из которых являются область с Arg222, Lys444, Ala291, Val293, Asn295, Arg218, Asp451, Lys199, Glu294, Lys195, Glu292 и гидрофобный карман с аминокислотами Leu115, Arg117, Phe134, Tyr138, Ile142, Phe149, Phe157, Tyr161, Arg186, Lys190.

2. Все аминокислотные остатки из сайтов связывания располагаются в стабильных элементах вторичной структуры сывороточного альбумина человека.

3. Аминокислотные замены Asp269-Gly269 (Nagasaki-1), Glu354-Lys354 (Hiroshima-1), Asp375-Asn375 (Nagasaki-2) уменьшают свободную энергию связывания билирубина сывороточным альбумином человека, а аминокислотные замены His3-Gln3 (Nagasaki-3) и Glu382-Lys382 (Hiroshima-2) – повышают.

4. Обнаруженные ранее у детей Хиросимы и Нагасаки мутации не могут влиять на вторичную структуру и на известные сайты связывания билирубина сывороточным альбумином человека. То есть серьезные структурные перестройки, способные влиять на связывание билирубина отдаленными сайтами, не могут вызывать эти мутации. В результате данных мутаций не возникают и новые сайты связывания, обладающие бóльшим сродством с билирубином, чем наиболее специфичные известные.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список использованных источников

1. Clinical indications for the albumin use: still a controversial issue / P. Caraceni [et al.] // Eur. J. Int. Med. – 2013. – Vol. 24, N 8. – P. 721–728. https://doi.org/10.1016/j.ejim.2013.05.015

2. He, X. M. Atomic structure and chemistry of human serum albumin / X. M. He, D. C. Carter // Nature. – 1992. – Vol. 358, N 6383. – P. 209–215. https://doi.org/10.1038/358209a0

3. Colmenarejo, G. In silico predicttion of drug-binding strengths to human serum albumin / G. Colmenarejo // Med. Res. Rev. – 2003. – Vol. 23, N 3. – P. 275–301. https://doi.org/10.1002/med.10039

4. Желтухи неонатального периода: учеб.-метод. пособие / А. К. Ткаченко [и др.]. – Минск : БГМУ, 2017. – 68 с.

5. Point substitutions in Japanese alloalbumins / K. Arai [et al.] // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 1989. – Vol. 86, N 16. – P. 6092–6096. https://doi.org/10.1073/pnas.86.16.6092

6. Khrustalev, V. V. Amino acid content of beta strands and alpha helices depends on their flanking secondary structure elements / V. V. Khrustalev, T. A. Khrustaleva, V. V. Poboinev // Biosystems. – 2018. – Vol. 168. – P. 45–54. https://doi.org/10.1016/j.biosystems.2018.04.002

7. PubChem 2019 update: improved access to chemical data / S. Kim [et al.] // Nucl. Acids Res. – 2019. – Vol. 47, N D1. – P. D1102–D1109. https://doi.org/10.1093/nar/gky1033

8. Bikadi, Z. Application of the PM6 semi-empirical method to modeling proteins enhances docking accuracy of AutoDock / Z. Bikadi, E. Hazai // J. Cheminf. – 2009. – Vol. 1. – Art. 15. https://doi.org/10.1186/1758-2946-1-15

9. Crystallographic analysis of human serum albumin complexed with 4Z,15E-bilirubin-IXalpha / P. A. Zunszain [et al.] // J. Mol. Biol. – 2008. – Vol. 381, N 2. – P. 394–406. https://doi.org/10.1016/j.jmb.2008.06.016

10. PLIP: fully automated protein-ligand interaction profiler / S. Salentin [et al.] // Nucl. Acids Res. – 2015. – Vol. 43, N W1. – P. W443–W447. https://doi.org/10.1093/nar/gkv315

11. Побойнев, В. В. Структурная изменчивость альфа-спиральных белков / В. В. Побойнев, В. В. Хрусталев, Т. А. Хрусталева // Инновационные технологии в фармации : сб. науч. тр. / под общ. ред. Е. Г. Приваловой. – Иркутск,

2019. – Вып. 6 : материалы Всерос. науч.-практ. конф. с междунар. участием, посвящ. 100-летию со дня образования Иркутск. гос. мед. ун-та (Иркутск, 14–15 июня 2019 г.). – С. 118–127.

12. The structural characterization and bilirubin-binding properties of albumin Herborn, a [Lys240→Glu] albumin mutant / L. Minchiotti [et al.] // Eur. J. Biochem. – 1993. – Vol. 214, N 2. – P. 437–444. https://doi.org/10.1111/j.1432-1033.1993.tb17939.x

13. Jacobsen, J. Studies of the affinity of human serum albumin for binding of bilirubin at different temperatures and ionic strength / J. Jacobsen // Int. J. Pept. Protein Res. – 1977. – Vol. 9, N 3. – P. 235–239. https://doi.org/10.1111/j.1399-3011.1977.tb03486.x

References

1. Caraceni P., Domenicali M., Tovoli A., Napoli L., Ricci C. S., Tufoni M., Bernardi M. Clinical indications for the albumin use: still a controversial issue. *European Journal of Internal Medicine*, 2013, vol. 24, no. 8, pp. 721–728. https://doi.org/10.1016/j.ejim.2013.05.015

2. He X. M., Carter D. C. Atomic structure and chemistry of human serum albumin. *Nature*, 1992, vol. 358, no. 6383, pp. 209–215. https://doi.org/10.1038/358209a0

3. Colmenarejo G. In silico prediction of drug-binding strengths to human serum albumin. *Medicinal Research Reviews*, 2003, vol. 23, no. 3, pp. 275–301. https://doi.org/10.1002/med.10039

4. Tkachenko A. K., Ustinovich A. A., Romanova O. N., Klyuchareva A. A., Novak L. V. *Jaundice of the neonatal period: a teaching aid*. Minsk, Belarusian State Medical University, 2017. 68 p. (in Russian).

5. Arai K., Madison J., Huss K., Ishioka N., Satoh C., Fujita M., Neel J. V., Sakurabayashi I., Putnam F. W. Point substitutions in Japanese alloalbumins. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1989, vol. 86, no. 16, pp. 6092–6096. https://doi.org/10.1073/pnas.86.16.6092

6. Khrustalev V. V., Khrustaleva T. A., Poboinev V. V. Amino acid content of beta strands and alpha helices depends on their flanking secondary structure elements. *Biosystems*, 2018, vol. 168, pp. 45–54. https://doi.org/10.1016/j.biosystems.2018.04.002

7. Kim S., Chen J., Cheng T., Gindulyte A., He J., He S. [et al.]. PubChem 2019 update: improved access to chemical data. *Nucleic Acids Research*, 2019, vol. 47, no. D1, pp. D1102–D1109. https://doi.org/10.1093/nar/gky1033

8. Bikadi Z., Hazai E. Application of the PM6 semi-empirical method to modeling proteins enhances docking accuracy of AutoDock. *Journal of Cheminformatics*, 2009, vol. 1, art. 15. https://doi.org/10.1186/1758-2946-1-15

9. Zunszain P. A., Ghuman J., McDonagh A. F., Curry S. Crystallographic analysis of human serum albumin complexed with 4Z,15E-bilirubin-IXalpha. *Journal of Molecular Biology*, 2008, vol. 381, no. 2, pp. 394–406. https://doi.org/10.1016/j.jmb.2008.06.016

10. Salentin S., Schreiber S., Haupt V. J., Adasme M., Schroeder M. PLIP: fully automated protein-ligand interaction profiler. *Nucleic Acids Research*, 2015, vol. 43, no. W1, pp. W443–W447. https://doi.org/10.1093/nar/gkv315

11. Poboinev V. V., Khrustalev V. V., Khrustaleva T. A. Structural variability of alpha-helical proteins. *Innovatsionnye tekhnologii v farmatsii: sbornik nauchnykh trudov. Vypusk 6. Materialy Vserossiiskoi nauchno-prakticheskoi konferentsii c mezhdunarodnym uchastiem, posvyashchennoi 100-letiyu so dnya obrazovaniya Irkutskogo gosudarstvennogo meditsinskogo universiteta (Irkutsk, 14–15 iyunya 2019 goda)* [Innovative technologies in pharmacy: collection of scientific papers. Issue 6. Proceedings of the All-Russian scientific and practical conference with international participation, dedicated to the 100th anniversary of the founding of Irkutsk State Medical University (Irkutsk, June 14–15, 2019)]. Irkutsk, 2019, pp. 118–127 (in Russian).

12. Minchiotti L., Galliano M., Zapponi M. C., Tenni R. The structural characterization and bilirubin-binding properties of albumin Herborn, a [Lys240→Glu] albumin mutant. *European. Journal of Biochemistry*, 1993, vol. 214, no. 2, pp. 437–444. https://doi.org/10.1111/j.1432-1033.1993.tb17939.x

13. Jacobsen J. Studies of the affinity of human serum albumin for binding of bilirubin at different temperatures and ionic strength. *International Journal of Peptide and Protein Research*, 1977, vol. 9, no. 3, pp. 235–239. https://doi.org/10.1111/j.1399-3011.1977.tb03486.x

Информация об авторах

Побойнев Виктор Витольдович – аспирант, ассистент. Белорусский государственный медицинский университет (пр. Дзержинского, 83, 220116, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: dremozzew@mail.ru

Хрусталев Владислав Викторович – доцент, заведующий кафедрой. Белорусский государственный медицинский университет (пр. Дзержинского, 83, 220116, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: vvkhrustalev@mail.ru

Стожаров Александр Николаевич – профессор, заведующий кафедрой. Белорусский государственный медицинский университет (пр. Дзержинского, 83, 220116, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: stojarov@mail.ru

Хрусталева Татьяна Александровна – ст. науч. сотрудник. Институт физиологии НАН Беларуси (ул. Академическая, 28, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: tanissia.lir@gmail.com

Information about the authors

Victor V. Poboinev – Postgraduate student, Assistant. Belarusian State Medical University (83, Dzerzhynski Ave., 220116, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: dremozzew@mail.ru

Vladislav V. Khrustalev – Associate Professor, Head of the Department. Belarusian State Medical University (83, Dzerzhynski Ave., 220116, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: vvkhrustalev@mail.ru

Aliaksandr N. Stojarov – Professor, Head of the Department. Belarusian State Medical University (83, Dzerzhynski Ave., 220116, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: stojarov@mail.ru

Tatyana A. Khrustaleva – Senior Researcher. Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Belarus (28, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: tanissia.lir@gmail.com

ISSN 1814-6023 (Print)
ISSN 2524-2350 (Online)
UDC 616.728.3-018.38-073.8
https://doi.org/10.29235/1814-6023-2021-18-1-58-68 Received 12.07.2020

Oleksandr O. Kostrub[1], Viktor V. Kotiuk[1], Iurii V. Poliachenko[1], Mikhail A. Gerasimenko[2], Roman I. Blonskyi[1], Ivan A. Zasadnyuk[1]

[1]Institute of Traumatology and Orthopedics of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine, Kyiv, Ukraine
[2]Republican Scientific and Practical Center of Traumatology and Orthopedics, Minsk, Republic of Belarus

VARIABILITY OF ANTEROLATERAL LIGAMENT ON MRI IMAGES – LACK OF SURVEY STANDARDIZATION OR ANATOMICAL VARIANTS?

Abstract. The anterolateral ligament is a rotational stabilizer of the knee joint. It is not always clear what we actually see on MRI in the area of anterolateral ligament (ALL).

The aim of the study was to evaluate the ALL variants on MRI images to summarize their common features and differences, and to try to find an explanation for the phenomenon of the ALL variability.

200 series of MRI images of knee joints were analyzed. The presence of the ALL, the number of its layers, the relation to the joint capsule, and other anatomical features were assessed.

The ALL was visualized on MRI at least partially in 88 % of cases. At least partially two-layer structure was detected in 68 % of all 200 MRI series. The wavy appearance of the certain portions of the anterolateral ligament was observed in some normal knee joints without a history of injuries.

Determined that the ALL is a separate anatomical element of the knee joint that has a variable, but in most cases two-layered, anatomical structure and can be detected on MRI in at least 88 % of cases. Axial sections help to identify ALL in complex cases and allow analyzing its anatomy, but adding little in the diagnosis of ALL injury.

Keywords: anterolateral ligament, MRI, anatomy, injuries, knee joint, rotational stability

For citation: Kostrub O. O., Kotiuk V. V., Poliachenko Iu. V., Gerasimenko M. A., Blonskyi R. I., Zasadnyuk I. A. Variability of anterolateral ligament on MRI images – lack of survey standardization or anatomical variants? *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seriya meditsinskikh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2021, vol. 18, no. 1, pp. 58–68. https://doi.org/10.29235/1814-6023-2021-18-1-58-68

А. А. Коструб[1], В. В. Котюк[1], Ю. В. Поляченко[1], М. А. Герасименко[2], Р. И. Блонский[1], И. А. Засаднюк[1]

[1]Институт травматологии и ортопедии НАМН Украины, Киев, Украина
[2]Республиканский научно-практический центр травматологии и ортопедии, Минск, Республика Беларусь

ВАРИАБЕЛЬНОСТЬ АНТЕРОЛАТЕРАЛЬНОЙ СВЯЗКИ НА МРТ – ОТСУТСТВИЕ СТАНДАРТИЗАЦИИ ИССЛЕДОВАНИЙ ИЛИ ВАРИАНТЫ АНАТОМИИ?

Аннотация. Антеролатеральная связка является ротационным стабилизатором коленного сустава. Однако не всегда ясно, что мы видим на МРТ в этой области.

Цель исследования – оценить с помощью МРТ-изображений варианты антеролатеральной связки для выявления их общих черт и отличий и попытаться найти объяснение феномену этой вариабельности.

Проанализировано 200 серий МРТ-изображений коленных суставов. Оценено наличие антеролатеральной связки, количество ее слоев, взаимосвязь с капсулой сустава и другие анатомические особенности.

Антеролатеральная связка визуализировалась на МРТ хотя бы частично в 88 % случаев. По крайней мере частичная двухслойная структура была обнаружена в 68 % из всех 200 серий МРТ. Волнообразный вид некоторых частей антеролатеральной связки наблюдался в некоторых нормальных коленных суставах без травм в анамнезе.

В ходе исследований установлено, что антеролатеральная связка является отдельным анатомическим элементом коленного сустава, который имеет вариабельную, преимущественно двухслойную, анатомическую структуру и может быть обнаружена на МРТ по меньшей мере в 88 % случаев. Аксиальные срезы позволяют идентифицировать антеролатеральную связку в сложных случаях и проанализировать ее анатомию, но малоинформативны в плане диагностики ее повреждений.

Ключевые слова: антеролатеральная связка, МРТ, анатомия, повреждение, коленный сустав, ротационная стабильность

Для цитирования: Вариабельность антеролатеральной связки на МРТ – отсутствие стандартизации исследований или варианты анатомии? / А. А. Коструб [и др.] // Вес. Нац. акад. навук Беларусі. Сер. мед. навук. – 2021. – Т. 18, № 1. – С. 58–68 (*на англ.*). https://doi.org/10.29235/1814-6023-2021-18-1-58-68

Introduction. The anterolateral ligament (ALL) is a relatively new concept of the anterolateral rotational stabilizer of the knee joint. It was described by Segond in 1879 [1] but gained its popularity in 2007 thanks to the publication of E. L. Vieira et al. (2007) [2]. ALL injuries are considered to accompany 64 % of anterior cruciate ligament (ACL) ruptures [3] and are associated with lateral meniscus injuries. Perceptions of anatomy, function, current imaging capabilities, and optimal ways to restore ALL have changed over time and continue to do so today. There is still no consensus among scientists on the anatomy of the ALL, and even its existence is questioned by several anatomical studies [4].

On the one hand, numerous anatomical studies [5–9], MRI [3], and ultrasonography studies [10] identified ALL in all or most knee joints. On the other hand, some scientists verify ALL only in the form of thickening of the joint capsule [7, 11]. Some researchers do not identify it during anatomical dissections at all [4], or describe it only in the form of a multilayer structure consisted of aponeuroses of neighboring anatomical structures [12], or only as capsulo-osseous layer or the mid-third capsular ligament complex, which are the components of the anterolateral complex (the superficial and deep ITB, the capsulo-osseous layer of the ITB, and the anterolateral capsule) [13].

Quite a lot of MRI studies of ALL have already been published. But what do we see on MRI images in these works and in practice? Do the authors always show the ALL in the articles [14]? Do we always see exactly the ALL on MRI in practice? How to explain such variability of the ALL intensity, thickness, shape, anatomical structure among the patients? Exercises? Age? Improving visualization in inflammatory processes? What do we actually see on MRI in the area of ALL?

The aim of the study was to evaluate the anterolateral ligament variants on MRI images, to summarize their common features and differences, and to try finding an explanation for the phenomenon of its variability.

Materials and research methods. We analyzed ALL on 200 series of MRI images obtained from different MRI centers, on MRI scanners from 0.2 to 3 Tesla with the different number of channels and according to different study protocols. The presence of ALL, the number of its layers, the relation to the joint capsule and other anatomical features were assessed. We tried to associate the rate of identifying these features either with the technical equipment parameters or with anatomical peculiarities. In the previous study we already evaluated ALL on MRI images obtained from the same 1.5 Tesla MRI scanner with the standard investigation protocol. The decision to compare diagnostic capabilities of different tomographs and protocols originated from the great variability of ALL in our previous study that was challenging to explain.

Results and its discussion. The ALL was visualized on MRI at least partially in 88 % of cases. It looked quite variable on MRI images. The reason may be the variability of its anatomy as well as the diagnostic capabilities and limitations of the investigation method itself, or selected research protocols. We have noticed that the increase in the magnitude of the magnetic field plays its role in the frequency of ALL detection, but is more noticeable up to 1.5 Tesla. With an increase in the magnitude above 1.5 Tesla, the quality of ALL visualization increases, but the percentage of its detection does not increase so much. The reduction of the interslice interval in the frontal plane has much greater impact on the visualization of all portions of the ALL. Axial sections of the high-quality MRI scanners give the opportunity to analyze in sufficient detail the anatomy of separate layers of ALL, their mutual spatial arrangement, and the relationship with the surrounding anatomical structures. However, even the highest quality axial images of the knee joint sometimes raise questions about what we see – ALL or the fascia, joint capsule, or other structure. Axial sections greatly help to identify ALL in the complex cases and allow to analyze its anatomy, but add little to the diagnosis of ALL injury. On sagittal sections we were able to see ALL in only two of the two hundred patients. Moreover, even the reduction of the interslice interval to 0.5 mm on 3 T MRI scanners in 9 patients did not allow us to visualize ALL in this plane in any of them, so standard sagittal sections give little to the analysis of ALL. The presence of synovitis or soft tissue edema in the lateral parts of the knee joint improved the quality and the frequency of the ALL visualization and the detection of its bilayer structure.

At least a partial two-layer structure of the ALL was detected in 68 % of all 200 MRI series (or 77.3 % of those in whom the ALL was visualized at all). However, the anatomical features of this layering differed significantly among patients and depended on the level of the MRI section. The frequency of detection of two layers in the structure of ALL differed for all its portions. The two-layer anatomy of ALL was described by C. P. Helito et al. (2016) [15]. E. Herbst et al. (2017) [13], though they did not confirm

by the anatomical study the existence of ALL as a separate structure, described the structure of the anterolateral capsule of two layers, which were found to be fused into one contiguous layer anterior to the fibular collateral ligament. According to E. Herbst et al. (2017) in the area where the two layers of the joint capsule merged, a capsular thickening, or mid-third capsular ligament (described before by Hughston et al.) was present in 35 % of the specimens. Furthermore, the coronary ligaments, consisting of meniscofemoral and meniscotibial ligaments, were observed in all specimens. It seems that the inconsistency of the two-layer structure of ALL on MRI can be explained by the fact that these two layers (described above as layers of the anterolateral capsule) are merged in individual patients at different levels. But at another level we see meniscofemoral and meniscotibial ligaments, which are also perceived by some scientists as elements of the ALL. Thus, in fact, we can expect to see the following picture (Fig. 1) of the structure of ALL with different variations in the localization of the stratification zone, which depends on the anatomical features as well as the presence of synovitis in this area, which improves the separation of the ALL layers and of the ALL and surrounding structures (Fig. 2) due to their better visualization because of the presence of liquid with a high signal intensity between the layers.

Another question arose while analyzing ALL on MRI – what exactly to consider to be the two-layer structure of ALL? ALL almost always looks two-layered in the zones of attachment of meniscotibial and meniscofemoral portions to tibial and femoral portions. But it can go as a single sheet a little bit further (Fig. 3).

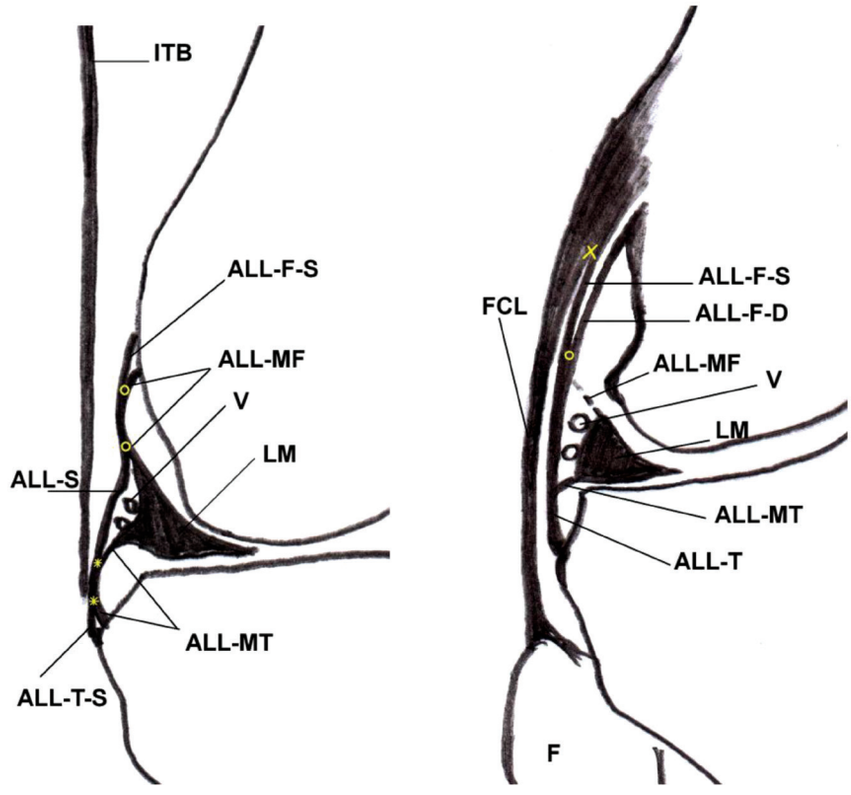
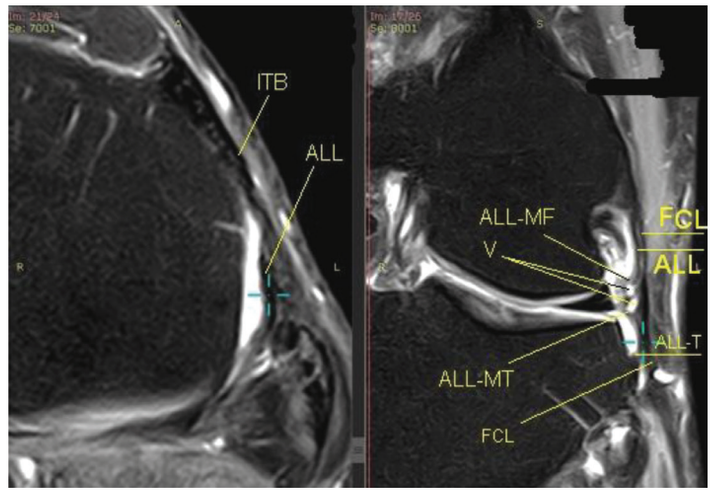
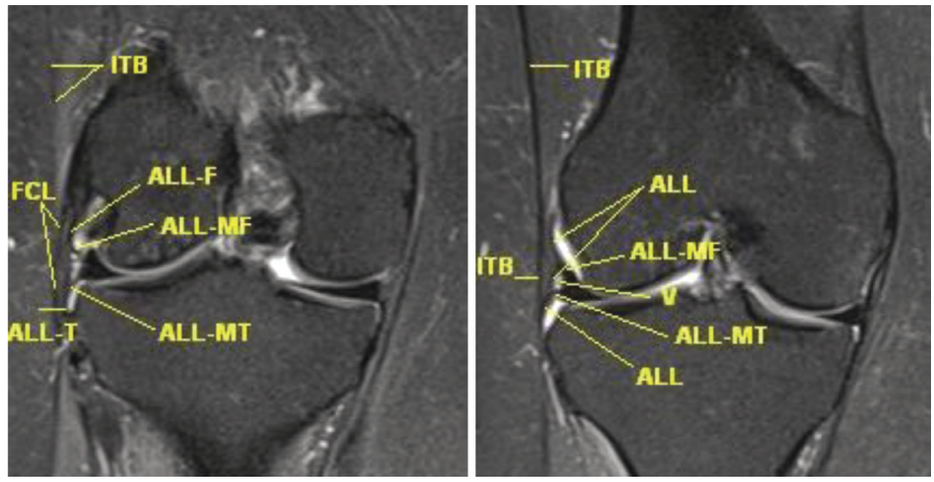


Fig. 1. Schematic representation of ALL on coronal MRI section: *A* – the more anterior section, immediately behind the attachment of the iliotibial tract, *B* – the more posterior section, closer to the fibular collateral ligament (the figure shows the most complete image of the ALL, which in practice usually looks very variable and often not with all the elements; the bifurcation of the layers may be more or less noticeable). ALL – anterolateral ligament, ALL-F – femoral portion of the ALL, ALL-F-S – superficial layer of the femoral portion of the ALL, ALL-F-D – deep layer of the femoral portion of the ALL, ALL-T – tibial portion of the ALL, ALL-T-S – superficial layer of the tibial portion of the ALL, ALL-S – superficial layer of the ALL, ALL-MT – meniscotibial portion of the ALL, ALL-MF – meniscofemoral portion of the ALL, FCL – fibular collateral ligament, ITB – iliotibial band, V – vessels between the ALL and lateral meniscus (arteria et vena inferiores laterales genus), LM – lateral meniscus, F – fibula, x – the proximal fibers merging zone of the superficial layer of the ALL femoral portion and the fibular collateral ligament, o – the merging zone of the superficial and deep layers of the femoral portion of the ALL, * – the merging zone of the superficial and deep layers of the tibial portion of the ALL



A *B*

Fig. 2. MRI imaging of the ALL in the 60-year-old patient with gouty synovitis: *A* – a strong tibial portion of the ALL and the ALL attachment site are well visualized, *B* – all portions of the ALL are well visualized (ALL is visualized deeper than the fibular collateral ligament, though according to a number of studies, the ALL fibers in the proximal parts should be superficial or merged with the fibular collateral ligament). Designations as in Fig. 1

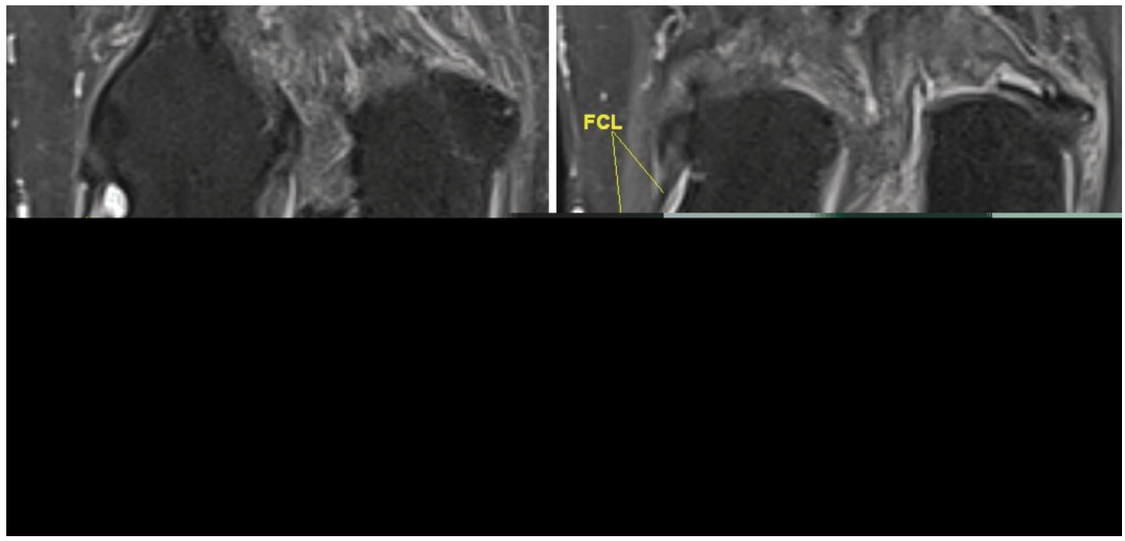


A *B*

Fig. 3. Coronal MRI sections of the knee joint with the ALL in a patient with partial anterior cruciate ligament injury: *A* – only one layer of the ALL is displayed, *B* – the more anterior coronal section (the single-layer structure of the ALL is visualized; in both images arteria et vena inferiores laterales genus are visualized between the ALL and the lateral meniscus). Designations as in Fig. 1

Sometimes we see a two-layer structure of ALL on MRI (Fig. 4–6). But we cannot always say for sure whether it is always really two layers of ALL or ALL with a joint capsule. Especially often such a recess which rather resembles the course of the capsule is observed on oblique coronal sections in MRI examination of ACL (Fig. 7). Sometimes we better see the femoral portion of the ALL on oblique coronal images made for ACL injury diagnostics (Fig. 7), sometimes – tibial (Fig. 8). Unfortunately, the assumption that ALL can be consistently better visualized on such MRI series has not been confirmed, as the angle of inclination of the sections corresponds to the angle of inclination of ACL, which is significantly greater than 20° inclination of ALL. We can assume that we` will be able to better trace the ALL throughout by using oblique coronal sections with an angle of 20°.

In some patients it was difficult to separate the ALL in certain areas from the lateral collateral ligament, iliotibial tract, or joint capsule, so certain portions of ALL looked quite contradictory on MRI. However, other parts of ALL could be well visualized and looked like a separate anatomical structure with typical fixation points and a course not typical for other anatomical entities. The relationship of certain ALL



A *B*

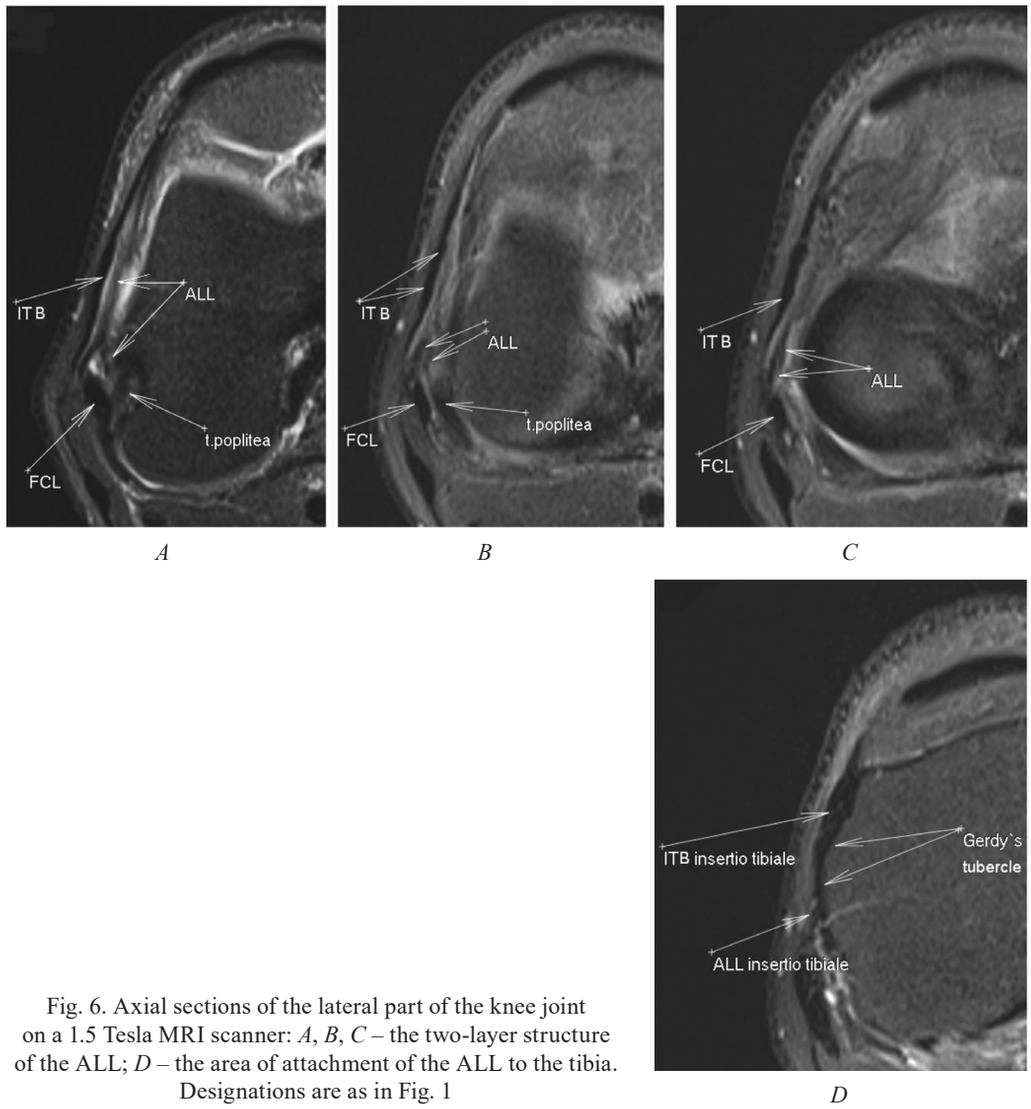
Fig. 4. Two-layer structure of the ALL on MRI images (1.5 Tesla MRI scanner) in the 68-year-old patient with degenerative damage to the medial meniscus (*A* – ALL is clearly traced as separate two layers throughout with wavy appearence in the distal (tibial) segments in both its sheets; *B* – fibular collateral ligament of the same patient, to illustrate the direction of its course separately from ALL). ALL-D – deep layer of the ALL, ALL-S – superficial layer of the ALL, FCL – fibular collateral ligament

A *B*

Fig. 5. Two-layer ALL in a patient with partial anterior cruciate ligament injury: *A* – acute period after injury (we see the wavy appearance of the superficial and deep layers of the femoral portion of the ALL (ALL-F); some studies have described this as a sign of ALL damage); *B* – the same knee one year after the injury (this time we see the wavy course of the deep portion of the ALL (ALL-D) in another location). Designations are as in Fig. 1

anatomical variants with other anatomical or clinical parameters as well as distinctive features of ALL in children and adolescents have not been identified so far.

We have not been able to confirm the assumption that we can more clearly or more often separate the layers of ALL or see it separately from the joint capsule on MRI in children and adolescents, while degenerative changes in older age can complicate the visualization of fine structures. C. P. Helito et al. (2018) [16] also wrote about the worse imaging of ALL on MRI in children. Visualization of superficial and deep sheets of ALL according to the MRI images analyzed by us thus far did not depend on the age of the patient. Fig. 9 shows the ALL in a 14-year-old girl with a rupture of the lateral discoid meniscus, which occurred without trauma. This case demonstrates the lack of advantages of a young age for the quality of ALL imaging.



A *B* *C* *D*

Fig. 6. Axial sections of the lateral part of the knee joint on a 1.5 Tesla MRI scanner: *A*, *B*, *C* – the two-layer structure of the ALL; *D* – the area of attachment of the ALL to the tibia. Designations are as in Fig. 1

Such variability of MRI imaging of the normal ALL may explain the diverse and sometimes contradictory anatomical findings. The following illustrations will show the variability of the MRI pattern of the ALL.

The question of what exactly we see on MRI only seems simple at first glance. The new articles constantly appear describing the visualization of relatively thin structures on MRI, which we have seen before, but not always associated with them, or found not constantly, or have not paid attention to. Thus, Batty L. and others published an article on MRI in 2019 with a picture of Kaplan fibers, which we, of course, have seen before, but were not always sure that we saw exactly them [18]. Participants of the ALL consensus compared this situation with a similar situation with the medial patellofemoral ligament. Several anatomical studies did not identify it at all in the early stages of studying its anatomy and its role in the stability of the patella [19]. However, in many MRI images the ALL looks so clear (Fig. 12) with typical areas of attachment to the bone that it is difficult to explain it by any other structure.

Perhaps improving the quality of MRI will increase resolution and will allow us seing ALL more clearly. Undoubtedly, depending on the characteristics of the MRI scanner (magnitude of the magnetic field, number of channels, etc.) and the study protocol, we have more or less chance to see the structure of the ALL. It is true to say that we rarely visualize ALL in detail with low-field MRI tomographs and with large interslice intervals. However, with an adequate study protocol, the frequency of ALL identifying with MRI even on low-field tomographs is not much lower than on higher-quality tomographs. Of course, the quality of imaging is inferior to more powerful devices and it is more difficult to assess

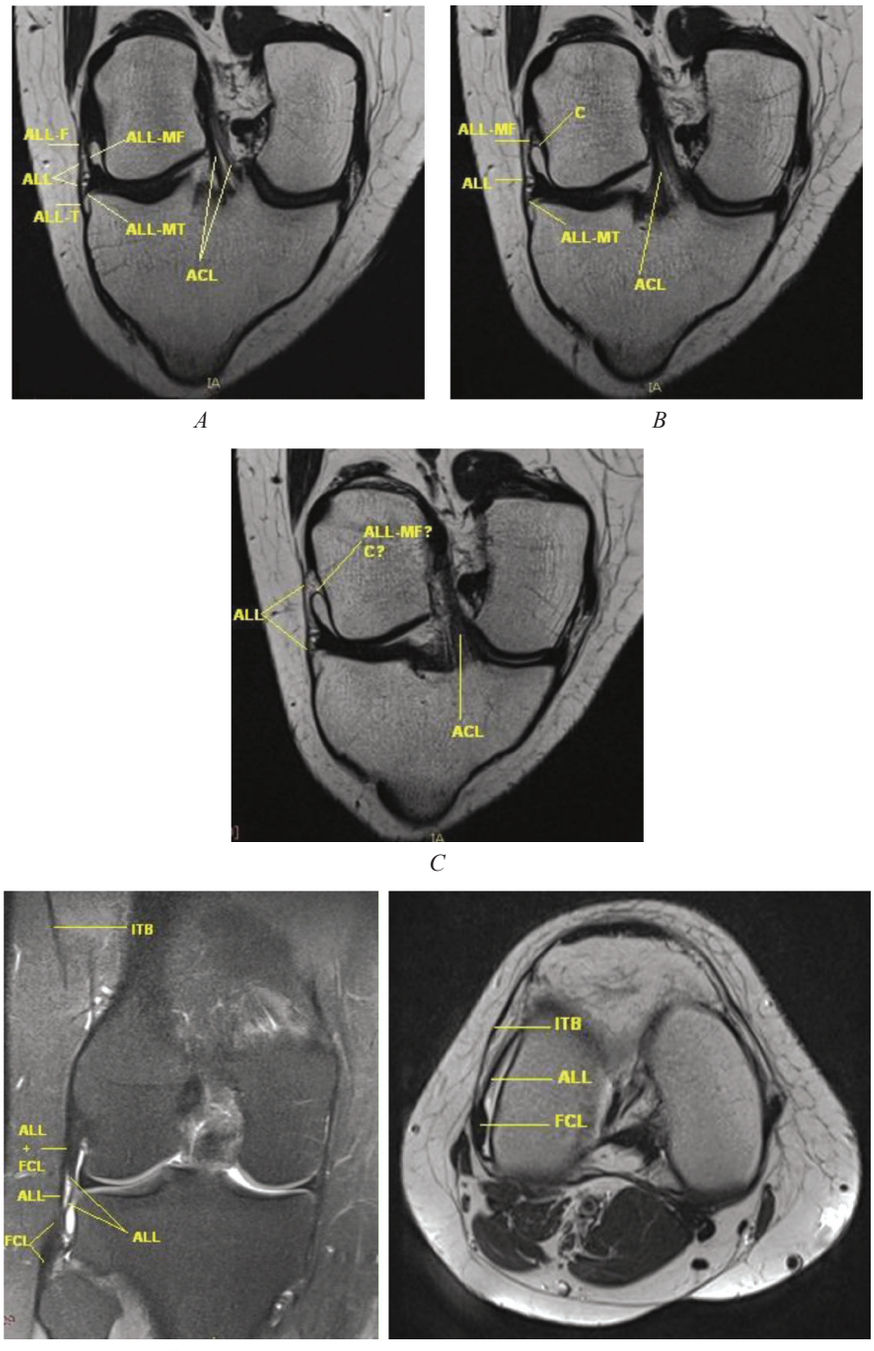
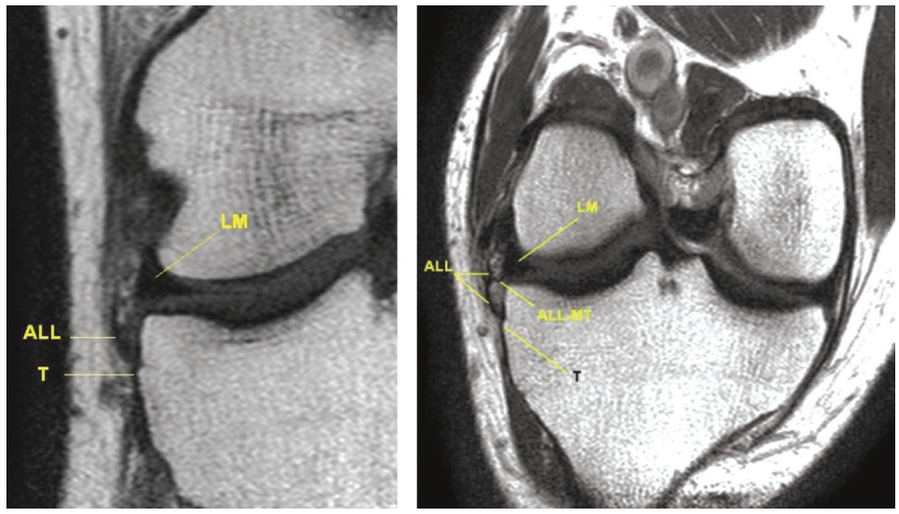
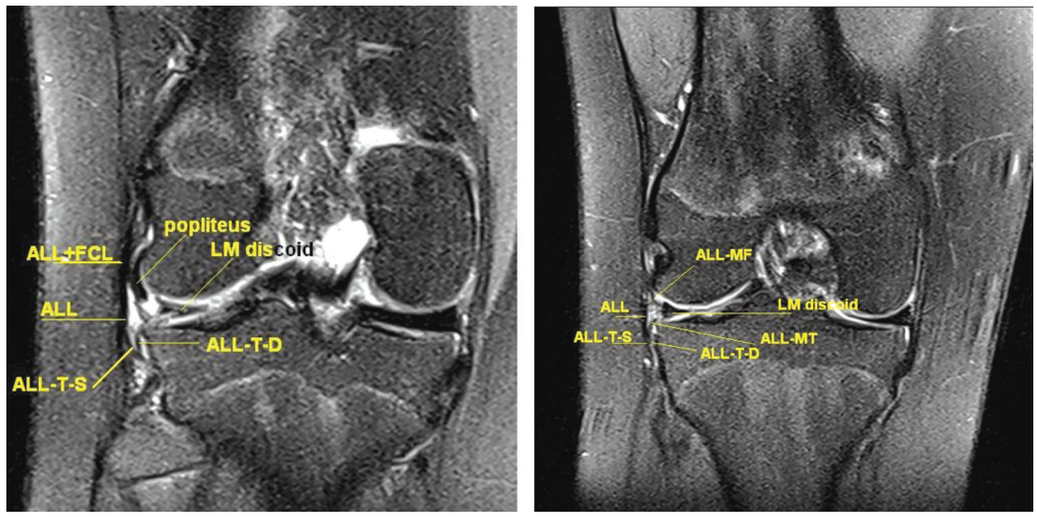


Fig. 7. MRI of a 28-year-old woman's knee joint with synovitis in the lateral parts and a well-defined ALL (1.5 Tesla MRI scanner)*: A*, *B*, *C* – oblique coronal sections corresponding to the direction of the ACL fibers (In some cases, the inclination angle of such sections better corresponds to the angle of inclination of the ALL. So, sometimes they allow visualizing ALL better than in standard coronal sections. If in Fig. *A* we think that we can confidently see the two-layer structure of ALL, and in Fig. *B* we even separate the meniscofemoral portion and the joint capsule, then in Fig. *C* the question arises – what exactly do we see – the meniscofemoral portion of ALL or joint capsule (ALL-MF vs C)? The intensity of the structure suggests that this is the ligament or at least thickened to withstand loads fibrous capsule of the joint. However, its recess as in Fig. *C* resembles rather the recess of the joint capsule. This form we observe in oblique coronal sections quite often. Sometimes we see a much tighter structure attached to the femoral condyle as in Fig. *B* (ALL-MF), which we consider to be a portion of ALL. But how to interpret such a recess of the capsule, and whether it can be stretched during flexion and internal rotation? The question remains open); *D* – we also see a two-layer structure of the ALL on the coronal section, but proximal fibers of its superficial femoral portion are merged with the fibular collateral ligament (ALL + FCL); *E* – axial sections of this patient. It is more difficult to see the superficial and deep layers of ALL simultaneously in one image possibly due to the merging of the fibers of its femoral portion with the fibular collateral ligament *C* – joint capsule, the rest designations are as in Fig. 1



A *B*

Fig. 8. Coronal (*A*) and oblique coronal (*B*) section of a healthy knee joint according to the direction of the ACL fibers with visualization of ALL (MRI scanner 1.5 Tesla). T – tibia, the rest designations are as in Fig. 1



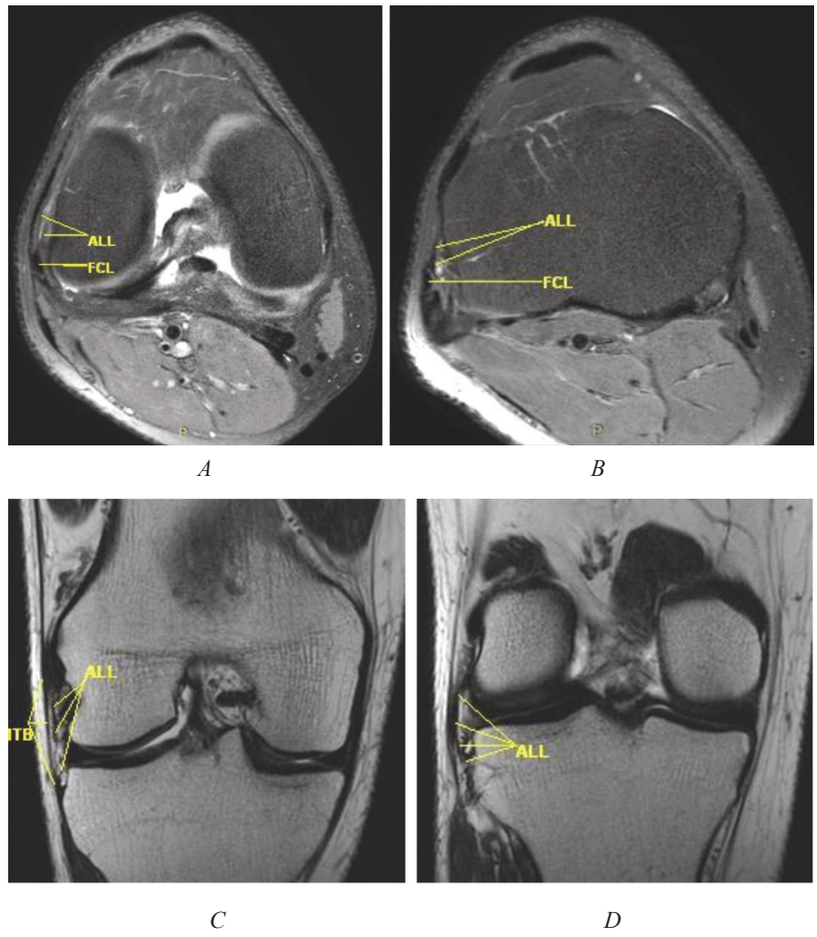
A *B*

Fig. 9. ALL in a 14-year-old girl with a non-traumatic rupture of the lateral discoid meniscus: *A* – more anterior coronal section, *B* – more posterior coronal section (Rather poor and fragmental visualization of ALL in spite of local synovitis, small interslice interval and high quality 1,5 Tesla MRI scanner. The continuity of ALL is rather questionable in this case. But there was no history of trauma)

its integrity or injury signs, certain portions are less confidently identified, but the general features and the presence of ALL can usually be assessed by such MRI.

The wavy appearance of certain portions of ALL was observed by us in some normal knee joints without a history of injuries (see Fig. 4) and in some knee joints with a minor injury but without other signs of possible ALL rupture (Fig. 10). We suggest that this may be due to a decrease in tension of ALL with full extension and neutral rotation of the lower leg. However, it can also be a symptom of ALL injury [17]. Of course, if its injury is suspected as in Fig. 5 and Fig. 11, this symptom should be taken into account, but not relied on as the only diagnostic criterion. And perhaps the injured knee joint should be compared with a healthy contralateral one.

Various scientists report MRI images of injured ALL in their publications. There are only few questions about the Segond fracture. But not all the images of the ALL rupture presented in these publications [20, 21] can be interpreted unambiguously. Given that ALL according to operative explorations in most cases (more than 57 %) is torn not transversely and without a Segond fracture, but with rupture of fibers



A *B*

C *D*

Fig. 10. MRI on a Philips Achieva 3.0 Tesla scanner of a 40-year-old man's knee with partial ACL injury: *A*, *B* – axial sections; *C*, *D* – coronal sections (ALL is relatively thin, but its two-layer structure is well traced on the axial section (*A*). On coronal section (*C*), the ALL appears somewhat wavy, which could potentially be a sign of at least partial damage, but given the absence of local edema and significant inflammatory changes and MRI conducted in the acute period, we can assume this as a variant of the normal). Designations are as in Fig. 1

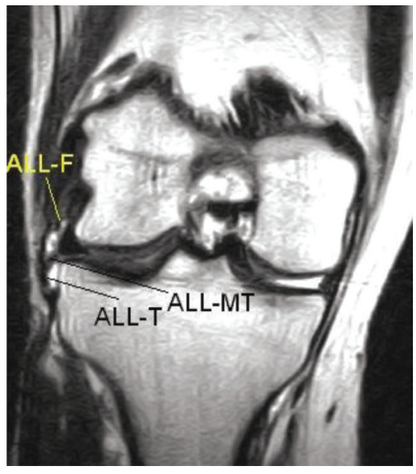


Fig. 11. Highly possible rupture of the ALL in the knee joint with synovitis in a patient with acute ACL rupture (The wavy fibers of the femoral portion of the ALL (ALL-F) may be a sign of its injury. However, as we see in previous series of images, such waviness is often visualized in healthy knee joints. Therefore, we can't claim that the ALL is damaged in this image. But all considered ALL is much like to be ruptured). Designations are as in Fig. 1

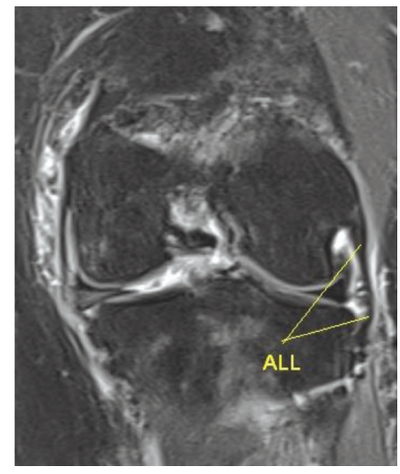


Fig. 12. The thick ALL in patient with medial knee osteoarthritis and varus deformity (It can be assumed that such ALL hypertrophy is caused by chronic overload of the lateral structures of the joint or by chronic inflammatory process in the knee joint. Or we may consider such a thick ALL as an anatomical variant)

and lateral capsule of the joint at different levels [19], we should expect in most cases similar indirect signs of rupture on MRI in the form of edema, etc. Unfortunately, these indirect signs are difficult to evaluate definitively. The example of very possible ALL rupture is shown in Fig. 11 and a complete absence of ALL after the recurrent complete knee dislocation in Fig. 13.

A limitation of the study is the analysis of ALL on MRI images obtained from the different MRI scanners according to different study protocols. This does not allow standardizing patients, and, therefore, obtaining reliable results of the sensitivity of the method on a particular tomograph and with a certain protocol, but it allows analyzing the reasons of different results of MRI and anatomical studies as well as understanding their causes – differences in equipment, study protocols or anatomical differences among patients.

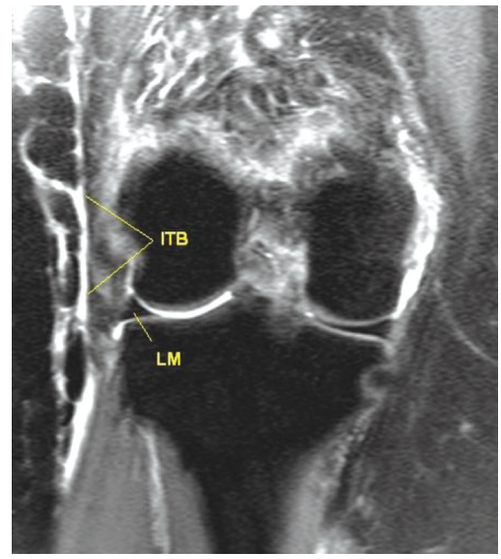


Fig. 13. Complete absence of ALL after the recurrent complete knee dislocation. Designations are as in Fig. 1

Conclusion. The ALL is a separate anatomical element of the knee joint that has a variable, but in most cases two-layered, anatomical structure and can be detected on MRI in at least 88 % of cases. Improving the quality of MRI scanners and study protocols with a decrease in the interslice intervals in the frontal plane can increase the frequency and quality of imaging of the ALL. Axial sections help to identify ALL in complex cases and allow analyzing its anatomy but adding little to the diagnosis of the ALL injury.

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

References

1. 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

2. Vieira E. L. C., Vieira E. A., da Silva R. T., dos Santos Berlfein P. A., Abdalla R. J., Cohen M. An anatomic study of the iliotibial tract. *Arthroscopy: The Journal of Arthroscopic and Related Surgery*, 2007, vol. 23, no. 3, pp. 269–274. https://doi.org/10.1016/j.arthro.2006.11.019

3. Lee D. W., Lee J. H., Kim J. N., Moon S. G., Kim N. R., Kim D. H., Kim J. G. Evaluation of anterolateral ligament injuries and concomitant lesions on magnetic resonance imaging after acute anterior cruciate ligament rupture. *Arthroscopy: The Journal of Arthroscopic and Related Surgery*, 2018, vol. 34, no. 8, pp. 2398–2406. https://doi.org/10.1016/j.arthro.2018.02.048

4. Fardin P. B. A., de Fúcio Lizardo J. H., da Silva Baptista J. Study of the Anterolateral Ligament of the knee in formalin-embedded cadavers. *Acta Ortopédica Brasileira*, 2017, vol. 25, no. 2, pp. 89–92. https://doi.org/10.1590/1413-785220172502162204

5. Brockmeyer M., Orth P., Höfer D., Seil R., Paulsen F., Menger M.D., Kohn D., Tschernig T. The anatomy of the anterolateral structures of the knee – a histologic and macroscopic approach. *Knee*, 2019, vol. 26, no. 3, pp. 636–646. https://doi.org/10.1016/j.knee.2019.02.017

6. 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

7. Helito C. P., Demange M. K., Bonadio M. B., Tírico L. E., Gobbi R. G., Pécora J. R., Camanho G. L. Anatomy and histology of the knee anterolateral ligament. *Orthopaedic Journal of Sports Medicine*, 2013, vol. 1, no. 7, art. ID 2325967113513546. https://doi.org/10.1177/2325967113513546

8. Caterine S., Litchfield R., Johnson M., Chronik B., Getgood A. A cadaveric study of the anterolateral ligament: re-introducing the lateral capsular ligament. *Knee Surgery, Sports Traumatology, Arthroscopy*, 2015, vol. 23, no. 11, pp. 3186–3195. https://doi.org/10.1007/s00167-014-3117-z

9. 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

10. Faruch B. M., Cavaignac E., Wytrykowski K., Constans O., Lapègue F., Chiavassa G. H., Larbi A., Sans N. Anterolateral ligament injuries in knees with an anterior cruciate ligament tear: contribution of ultrasonography and MRI. *European Radiology*, 2018, vol. 28, no. 1, pp. 58–65. https://doi.org/10.1007/s00330-017-4955-0

11. Cho H. J., Kwak D. S. Anatomical consideration of the anterolateral ligament of the knee. *BioMed Research International*, 2019, vol. 2019, art. ID: 5740473. https://doi.org/10.1155/2019/5740473

12. Nasu H., Nimura A., Yamaguchi K., Akita K. Morphology of the anterolateral ligament: a complex of fibrous tissues spread to the anterolateral aspect of the knee joint. *Anatomical Science International*, 2020, vol. 9, no. 4, pp. 470–477. https://doi.org/10.1007/s12565-020-00543-1 [Epub ahead of print].

13. Herbst E., Albers M., Burnham J.M., Fu F. H., Musahl V. The anterolateral complex of the knee. *Orthopaedic Journal of Sports Medicine*, 2017, vol. 5, no. 10, art. ID 2325967117730805. https://doi.org/10.1177/2325967117730805

14. Fu F., Kowalczuk M. (ed.). *Controversies of the anterolateral complex of the knee, an issue of clinics in sports medicine*. *Vol. 37-1.* Philadelphia, Elsevier, 2017. 160 p.

15. Helito C. P., do Amaral C. Jr., Nakamichi Y. D., Gobbi R. G., Bonadio M. B., Natalino R. J., Pécora J. R., Cardoso T. P., Camanho G. L., Demange M. K. Why do authors differ with regard to the femoral and meniscal anatomic parameters of the knee anterolateral ligament? *Orthopaedic Journal of Sports Medicine*, 2016, vol. 4, no. 12, art. ID 2325967116675604. https://doi.org/10.1177/2325967116675604

16. Helito C. P., Helito P. V. P., Leão R. V., Louza I. C. F., Bordalo-Rodrigues M., Cerri G. G. Magnetic resonance imaging assessment of the normal knee anterolateral ligament in children and adolescents. *Skeletal Radiology*, 2018, vol. 47, no. 9, pp. 1263–1268. https://doi.org/10.1007/s00256-018-2933-5

17. 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 of 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

18. Batty L., Murgier J., O'Sullivan R., Webster K. E., Feller J. A., Devitt B. M. The kaplan fibers of the iliotibial band can be identified on routine knee magnetic resonance imaging. *American Journal of Sports Medicine*, 2019, vol. 47, no. 12, pp. 2895–2903. https://doi.org/10.1177/0363546519868219

19. Sonnery-Cottet B., Daggett M., Fayard J. M., Ferretti A., Helito C. P., Lind M. [et al.]. Anterolateral Ligament Expert Group consensus paper on the management of internal rotation and instability of the anterior cruciate ligament – deficient knee. *Journal of Orthopaedics and Traumatology: Official Journal of the Italian Society of Orthopaedics and Traumatology*, 2017, vol. 18, no. 2, pp. 91–106. https://doi.org/10.1007/s10195-017-0449-8

20. Bonasia D. E., D'Amelio A., Pellegrino P., Rosso F., Rossi R. Anterolateral ligament of the knee: back to the future in anterior cruciate ligament reconstruction. *Orthopedic Reviews (Pavia)*, 2015, vol. 7, no. 2, article ID. 5773. https://doi.org/10.4081/or.2015.5773

21. Hegaze A., Khashoggi K., Alsayyad M., Hafiz R., Alqrache A., Mustafa H. N. Correlation between ACL injury and involvement of the anterolateral ligament: a retrospective study. *Current Orthopaedic Practice*, 2020, vol. 31, no. 1, pp. 23–29. https://doi.org/10.1097/BCO.0000000000000834

Information about the authors

Oleksandr O. Kostrub – D. Sc. (Med.), Professor, Head of the Department. Institute of Traumatology and Orthopedics of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine (27, Bulvarno-Kudriavska Str., 01601, Kyiv, Ukraine). E-mail: akostrub@ukr.net https://orcid.org/0000-0001-7925-9362

Viktor V. Kotiuk – Ph. D. (Med.), Senior Researcher. Institute of Traumatology and Orthopedics of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine (27, Bulvarno-Kudriavska Str., 01601, Kyiv, Ukraine). E-mail: kotyuk_v@,ukr.net https://orcid.org/0000-0001-8837-8603

Iurii V. Poliachenko – D. Sc. (Med.), Professor, Acting Director. Institute of Traumatology and Orthopedics of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine (27, Bulvarno-Kudriavska Str., 01601, Kyiv, Ukraine). E-mail: poliach.yv@gmail.com https://orcid.org/0000-0003-1814-4240

Mikhail A. Gerasimenko – D. Sc. (Med.), Professor, Director. Republican Scientific-Practical Center of Traumatology and Orthopedics (60/4, Kizhevatov Str., 220024, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: vbo@ortoped.by

Roman I. Blonskyi – D. Sc. (Med.), Leading Researcher. Institute of Traumatology and Orthopedics of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine (27, Bulvarno-Kudriavska Str., 01601, Kyiv, Ukraine). E-mail: drblonskiy@ukr.net https://orcid.org/0000-0003-2310-6345

Ivan A. Zasadnyuk – Ph. D. (Med.), Researcher. Institute of Traumatology and Orthopedics of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine (27, Bulvarno-Kudriavska Str., 01601, Kyiv, Ukraine). E-mail: zasadnyuk@ukr.net https://orcid.org/0000-0002-1099-4454

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). E-mail: akostrub@ukr.net, https://orcid.org/0000-0001-7925-9362

Котюк Виктор Владимирович – канд. мед. наук, ст. науч. сотрудник. Институт травматологии и ортопедии НАМН Украины (ул. Бульварно-Кудрявская, 27, 01601, г. Киев, Украина). E-mail: kotyuk_v@ukr.net https://orcid.org/0000-0001-8837-8603

Поляченко Юрий Володимирович – д-р мед. наук, профессор, и. о. директора. Институт травматологии и ортопедии НАМН Украины (ул. Бульварно-Кудрявская, 27, 01601, г. Киев, Украина). E-mail: poliach.yv@gmail.com https://orcid.org/0000-0003-1814-4240

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: vbo@ortoped.by

Блонский Роман Ивавнович – д-р мед. наук, вед. науч. сотрудник. Институт травматологии и ортопедии НАМН Украины (ул. Бульварно-Кудрявская, 27, 01601, г. Киев, Украина). E-mail: drblonskiy@ukr.net https://orcid.org/0000-0003-2310-6345

Засаднюк Иван Андреевич – канд. мед. наук, науч. сотрудник. Институт травматологии и ортопедии НАМН Украины (ул. Бульварно-Кудрявская, 27, 01601, г. Киев, Украина). E-mail: zasadnyuk@ukr.net https://orcid.org/0000-0002-1099-4454

ISSN 1814-6023 (Print)
ISSN 2524-2350 (Online)
УДК 616.2-018.7:616.211/.24]-07-053.2
https://doi.org/10.29235/1814-6023-2021-18-1-69-79

Поступила в редакцию 03.04.2020
Received 03.04.2020

А. Н. Асташонок[1], Н. Н. Полещук[1], Л. В. Рубаник[1], В. И. Бобровничий[2], А. В. Петрученя[3]

[1]Республиканский научно-практический центр эпидемиологии и микробиологии, Минск, Республика Беларусь
[2]3-я городская детская клиническая больница, Минск, Республика Беларусь
[3]Минская центральная районная больница, Минский р-н, Республика Беларусь

ПАТОМОРФОЗ МЕРЦАТЕЛЬНОГО ЭПИТЕЛИЯ РЕСПИРАТОРНОГО ТРАКТА У ДЕТЕЙ С ЗАБОЛЕВАНИЯМИ ВЕРХНИХ И НИЖНИХ ДЫХАТЕЛЬНЫХ ПУТЕЙ: УЛЬТРАСТРУКТУРНЫЙ И НАНОСКОПИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ

Аннотация. Охарактеризован цитоморфологический профиль соскобного эпителия носовой полости и в ряде случаев (26,19 %) биоптатов трахеи и бронхов у детей с острыми и хроническими заболеваниями дыхательной системы. Констатировано перераспределение реснитчатых эпителиоцитов носовой полости в пользу слизь-секретирующих (бокаловидных) клеток (группа острых респираторных инфекций – соотношение 2,3:1; группа хронических заболеваний легких (ХЗЛ)) – 1:2,4 при нормальных значениях данных показателей 5:1. У 28 (64,29 %) пациентов выявлена метаплазия слизистой на фоне локальной лейкоцитарной инфильтрации. С использованием атомно-силовой микроскопии описан патоморфоз цитоплазматической мембраны реснитчатых эпителиоцитов, характеризующийся изменением параметров текстурированности (R_a, R_q, R_{sk}, R_{max}, R_{sk}) и средней волнистости (W_a) их поверхности в группе ХЗЛ (R_a – 34,94 ± 7,8 нм; R_q – 41,26 ± 7,5; R_{max} – 225,55 ± 44,43; R_{sk} – 1,2; W_a – 43,23 ± 12,4 нм) по сравнению с контролем (R_a – 7,22 ± 1,94 нм; R_q – 11,43 ± 1,83; R_{max} – 111,83 ± 29,26; R_{sk} – 0,33; W_a – 83,81 ± 29,55 нм). Выявлены отклонения в микрогеометрии фактора формы ресничек, связанные с формированием аномально длинных цилий (10–12 мкм), уменьшением (0,095–0,15 мкм) и/или утолщением (0,3–0,4 мкм) их диаметра, а также пространственная дезориентация по типу «штопороподобного перекручивания». На основании электронномикроскопического анализа у двух пациентов идентифицирована патология наружных динеиновых ручек, что позволило установить наличие наследственно обусловленной аномалии аксонемы ресничек.

Ключевые слова: атомно-силовая микроскопия, патоморфоз мерцательного эпителия, цилиарная дискинезия, ультраструктурный анализ

Для цитирования: Патоморфоз мерцательного эпителия респираторного тракта у детей с заболеваниями верхних и нижних дыхательных путей: ультраструктурный и наноскопический анализ / А. Н. Асташонок [и др.] // Вес. Нац. акад. навук Беларусі. Сер. мед. навук. – 2021. – Т. 18, № 1. – С. 69–79. https://doi.org/10.29235/1814-6023-2021-18-1-69-79

Andrei N. Astashonok[1], Nikalay N. Poleshchuk[1], Lyudmila V. Rubanik[1], Vladimir I. Bobrovnichiy[2], Anastasiya V. Petruchenya[3]

[1]Republican Research and Practical Center for Epidemiology and Microbiology, Minsk, Republic of Belarus
[2]3th City Children's Clinical Hospital, Minsk, Republic of Belarus
[3]Minsk Central Regional Hospital, Minsk region, Republic of Belarus

CILIATED COLUMNAR EPITHELIUM PATHOMORPHOSIS IN CHILDREN WITH UPPER AND LOWER RESPIRATORY INFECTIONS: ULTRASTRUCTURAL AND NANOSCOPIC ANALYSIS

Abstract. The cytomorphological profile of nasal epithelium in children with acute and chronic respiratory disorders was characterized. The redistribution of nasal ciliary epithelial cells in favor of the mucus-secreting (goblet) cells was observed (group with acute respiratory infection – ratio 2.3:1; group with chronic lung disease – 1:2.4) with normal values of these indicators 5:1 (control group). The mucosal metaplasia, against a background of local leukocyte infiltration, was detected among 28 patients (64.29 %). Using atomic force microscopy, the pathomorphosis of the cytoplasmic membrane ciliated epithelium was described, which characterized by the changes in roughness parameters (R_a, R_q, R_{sk}, R_{max}, R_{sk}) and waviness (W_a) in group with chronic lung disease (R_a – 34.94 ± 7.8 nm, R_q – 41.26 ± 7.5, R_{max} – 225.55 ± 44.43, R_{sk} – 1,2, W_a – 43.23 ± 12.4 nm) compared with control group (R_a – 7.22 ± 1.94 nm, R_q – 11.43 ± 1.83, R_{max} – 111.83 ± 29.26, R_{sk} – 0.33, W_a – 83.81 ± 29.55 nm). Several deviations in microgeometry of the cilia form factor were revealed, which associated with formation of abnormally long cilia (10–12 μm), decreasing (0.095–0.15 μm) and/or a thickening (0.3–0.4 μm) of their diameter, as well as spatial disorientation like the "corkscrew twisting". Based on the electron microscopic analysis, anomalies in external dynein arms of the cilia axoneme were revealed, which made it possible to confirmed in two patients the hereditary respiratory pathology.

Keywords: atomic force microscopy, ciliary epithelium pathomorphosis, ciliary dyskinesia, ultrastructural analysis

For citation: Astashonok A. N., Poleshchuk N. N., Rubanik L. V., Bobrovnichiy V. I., Petruchenya A. V. Ciliated columnar epithelium pathomorphosis in children with upper and lower respiratory infections: ultrastructural and nanoscopic analysis. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seriya meditsinskikh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2021, vol. 18, no. 1, pp. 69–79 (in Russian). https://doi.org/10.29235/1814-6023-2021-18-1-69-79

Введение. Мерцательный (цилиарный) эпителий представляет собой одно- или многорядный пласт столбчатых и кубовидных клеток, имеющих на апикальной поверхности волосковидные отростки (реснички), способные к биению [1]. Цилиарный эпителий (ЦЭ) слизистых респираторного тракта является наиболее важным защитным барьером, препятствующим попаданию в макроорганизм таких внешних факторов, как вирусные и бактериальные агенты, аллергены, токсические вещества, пыль и другие инородные частицы [1]. В зависимости от анатомического расположения различают 4 ключевых цитотипа ЦЭ: 1 – реснитчатые эпителиоциты (РЭ); 2 – не реснитчатые эпителиоциты; 3 – бокаловидные клетки (БК); 4 – вставочные (базальные) клетки [1].

РЭ – наиболее многочисленный высокодифференцированный тип клеток, которые в норме составляют от 50 до 80 % всех элементов ЦЭ [1, 2]. Они имеют полигональную форму, центральное ядро и расширенную апикальную часть, на которой располагается пучок из 200–300 ресничек, которые волнообразно колеблются с постоянной частотой 8–20 Гц [1, 2]. БК составляют второй по значимости цитотип ЦЭ с характерной морфологией в виде «кубка». На их поверхности хорошо заметны микроворсинки, округлое ядро, смещенное на нижнюю часть сомы, а также небольшое отверстие («стома»), из которого гранулы муцина и другие вещества (например, гликопротеины) секретируются посредством экзоцитоза во внеклеточное пространство [3]. Находясь во внеклеточной среде, муцин, смешиваясь с водой, превращается в слизь, которая вместе с продуктами метаболизма, корпускулярными частицами и др. удаляется из клетки ритмическими движениями ресничек эпителиоцитов [3]. В норме соотношение РЭ к БК не превышает 4:1 или 5:1 [4, 5]. В межклеточном пространстве при нормальных условиях также обнаруживаются единичные лейкоциты в виде лимфоидных клеток и нейтрофилов.

Патомеханизмы, лежащие в основе воспалительных заболеваний дыхательных путей, связаны главным образом с нарушениями структуры и функции ресничек, а также мукоцилиарного транспорта, что приводит к недостаточному функционированию барьерной, иммунологической и очистительной функций респираторного тракта [6]. Это обусловливает оседание чужеродных частиц или патогенных микроорганизмов на слизистых оболочках, блокирование их выведения вместе со слизью и, как следствие, к изменению количественного соотношения РЭ и БК, а также к гиперплазии или метаплазии клеток ЦЭ.

Факторы, которые влияют на патогенез респираторных заболеваний, многообразны. Среди них существенное значение имеют, с одной стороны, врожденные (наследственные) аномалии, а с другой – нарушения гуморального (Т- и В-клеточный ответ) и/или клеточных звеньев (фагоциты, макрофаги) иммунитета, возникающих в антенатальном или неонатальном периоде [7]. Следует учитывать тот факт, что наследственный компонент рассматривается как один наиболее важнейших звеньев, влияющих на частую склонность к респираторным заболеваниям и развитию осложнений.

Большое внимание уделяется роли эпителия в патогенезе заболеваний дыхательной системы. Следует отметить, что функциональные и морфологические изменения ЦЭ возникают гораздо раньше клинических проявлений. Эти нарушения можно более точно выявлять с использованием методов высокоразрешающей микроскопии, таких как электронная (ЭМ) и атомно-силовая микроскопия (АСМ). ЭМ позволяет не только детализировать тонкие дефекты в организации реснитчатого аппарата клеток, но и оценивать морфофункциональное состояние других клеточных элементов при различных патологиях респираторного тракта [8]. При первичной цилиарной дискинезии (ПЦД) наиболее часто встречаются дефекты наружных динеиновых ручек (НДР) (26–59 %) и комбинированные изменения (6–39 %), связанные одновременно с аномалиями НДР и внутренних динеиновых ручек (ВДР), транслокацией центральной пары микротрубочек, нарушением радиальных спиц аксонемы [9]. АСМ является мощным инструментом для наблюдения структурно-функциональных свойств поверхности (топография, шероховатость, жесткость и упругость цитоплазматической мембраны), картографирования пространственного распределения и физико-химических свойств отдельных молекул, картирования молекулярной организации клеточных

мембран или отдельных белковых доменов в ее составе [10]. Тем не менее, в доступной литературе нет сведений о сочетанном применении АСМ и ЭМ для анализа структурно-функциональных изменений клеток ЦЭ при заболеваниях респираторного тракта.

Цель работы – охарактеризовать цитоморфологический состав слизистой носовой полости и в ряде случаев биоптатов трахеи и бронхов, а также выявить нано- и ультраструктурные маркеры патоморфоза реснитчатых эпителиоцитов у детей с острыми и хроническими заболеваниями дыхательной системы.

Материалы и методы исследования. Обследовано 50 детей в возрасте от 4 до 17 лет, госпитализированных в УЗ «3-я городская детская клиническая больница» г. Минска: 24 ребенка с острым и рецидивирующим бронхитом, пневмонией (I группа); 7 детей с бронхиальной астмой (II группа); 11 лиц с хроническими заболеваниями легких (ХЗЛ) – муковисцидозом, ПЦД), бронхоэктатической болезнью (III группа); 8 детей с подозрением на инородное тело в бронхах без признаков респираторной инфекции (контрольная группа). В работе использовали общепринятые методы, включающие сбор анамнестических данных, клинико-инструментальный (рентгенограмма органов грудной клетки), общелабораторный и микробиологический анализ. Исследование одобрено локальным этическим комитетом УЗ «3-я ГДКБ г. Минска». Для участия в исследовании детей получено добровольное информированное согласие их родителей.

Взятие мазков из носовой полости для цитологического анализа. Взятие соскобного материала осуществляли без предварительного очищения пациентом верхних дыхательных путей. Процедура включала следующие этапы: 1) запрокидывание головы пациента под углом 90°; 2) введение в полость носа стерильной цитологической щетки (зонда «Юнона») на расстоянии 1,5–2 см; 3) мягкое прокручивание цитощеткой носового хода (не менее 3 раз по часовой стрелке); 4) нанесение и равномерное распределение биоматериала путем прокатывания по обезжиренному предметному и/или покровному стеклу; 5) высушивание препарата в течение 5–10 мин с последующей его фиксацией 96 %-ным этиловым спиртом в течение 5 мин. Высушенные мазки-отпечатки окрашивали по методу Романовского–Гимза. На цитограммах определяли весь клеточный состав слизистой, который оценивали следующим образом: норма, воспаление, атрофические изменения и аллергические процессы.

Методика взятия биоптатов из трахеи и/или бронхов. В работе использовали аппарат для гибкой бронхоскопии KarlStorz–Endoskope с рабочим каналом 2,0 мм. Процедуру взятия материала осуществляли в стерильных условиях операционного зала. Пациента, лежащего на спине, обезболивали с помощью общей анестезии. Затем бронхоскоп вводили через нижний носовой ход в нижнюю носовую раковину, далее – в гортань до трахеи и/или главного бронха. Для взятия биопсийного материала использовали щипцы размером 1,2–1,8 мм, которые подводили перпендикулярно к месту взятия, открывали бранш, упирали в слизистую трахеи или бронха, закрывали бранш, затем извлекали щипцы с фрагментом биологического материала для исследования. Взятие биообразцов из трахеи и/или бронхов, а также дальнейший их анализ с использованием АСМ и ЭМ проводили только у пациентов III группы.

Атомно-силовая микроскопия. В работе использовали контактные кантилеверы CSC38/AIBS (константа жесткости – 0,03–0,09 Н/м, резонансная частота – 6–32 кГц) и тейпинговые микрозонды NSC15/Al BS (константа жесткости – 3–48 Н/м, резонансная частота – 60–330 кГц). Топографические изображения клеточных элементов ЦЭ получали на микроскопе Nanoscope IIId MultiMode (Bruker, США), оборудованном J-сканером. Всего проанализировано 803 изображения реснитчатого эпителия, из которых 594 микрофотографии соответствовали эпителию носовой полости (группы I–III), а 209 снимков – слизистой трахеи (группа III). Обработку фотографий, а также оценку базовых параметров текстурированности (шероховатости) (R_a, R_q, R_{sk}, R_{max}), средней волнистости (W_a), микропрофилей сечения (топологии) образца проводили с использованием программ Gwyddion 2.53, WSxM 5.0 Develop 9.1.

Дополнительно по результатам АСМ оценивали показатель дистрофического изменения РЭ по 4-крестной шкале (х – норма; хх – частичная дистрофия с вовлечением ядра или цитоплазмы; ххх – значительная дистрофия, охватывающая и ядро, и цитоплазму; хххх – полное разрушение клеточных структур).

Электронная микроскопия. Для ультраструктурного анализа полученные биоптаты трахеи и бронхов обрабатывали согласно протоколу [11]. Ультратонкие срезы получали на ультрамикротоме Ultracut E (Reichert Jung, Австрия) и исследовали на микроскопе JEM-1011 (Jeol, Япония) при увеличении 6000–200 000. Из приготовленных 26 блоков, залитых в специальные смолы, было получено 660 ультратонких срезов. С использованием цифровой фотокамеры микроскопа и программы ITEM 5.0 (Olympus, Германия) проанализировано 1118 электронных микрофотографий клеток ЦЭ, включая поперечные срезы ресничек эпителиоцитов.

Статистическая обработка результатов. Статистический анализ проводили в программе Statistica 7.0. Нормальность распределения значений параметров оценивали с использованием критерия Шапиро–Уилка. Результаты представлены как медиана (Me) и интерквартильный размах в виде 25 и 75 процентилей: Me (25 %; 75 %) либо M (среднее) ± SD (стандартное отклонение). Для статистического анализа различия считали статистически достоверными при достигнутом уровне значимости $p \leq 0{,}05$.

Результаты и их обсуждение. *Цитологический анализ.* Данный метод использовали для оценки ключевых показателей (соотношения РЭ и БК, наличия маркеров воспалительного ответа – лейкоцитов) и анализа структурно-функционального состояния клеточного пласта слизистой.

Цитологический профиль носовой полости в контрольной группе был представлен многочисленными РЭ на фоне единичных БК и лейкоцитов (0–1), что свидетельствовало об отсутствии воспалительных реакций и патологических изменений. Плоский эпителий регистрировали в виде единичных клеточных элементов в минимальном количестве (0–2 в полях зрения). Других цитотипов не выявлено.

Совершенно иная картина отмечалась у детей групп I–III, у которых показатели цитограммы зависели от симптоматики и течения респираторного заболевания, наличия сопутствующей патологии (табл. 1).

Таблица 1. **Количественные значения назоцитограммы детей групп I–III в сравнении с контролем**

Table 1. **Quantitative values of the nasocytograms in children (groups I–III) in comparison with control**

Клеточный состав слизистой носа	Группа I (*n* = 24)	Группа II (*n* = 7)	Группа III (*n* = 11)	Контроль (*n* = 8)
РЭ, Me (25 %; 75 %)	33 [22; 38,5]	13,7 [10; 17]	12 [8; 18]	65,5 [57,5; 71,5]
БК, Me (25 %; 75 %)	14 [10; 15]	5,7 [3; 8]	29 [21; 32]	12 [10,5; 12]
Соотношение РЭ к БК	2,3:1	2,7:1	1:2,4	5,4:1
Не реснитчатые клетки, Me (25 %; 75 %)	9 [8; 13,5]	7,7 [5; 8]	9 [8; 13]	4,5 [2,5; 6,5]
Плоский (метаплазированный) эпителий, Me (25 %; 75 %)	2 [1; 5]	2,7 [1; 4]	4 [3; 8]	0 [0; 1]
Лейкоциты, Me (25 %; 75 %)	2 [0; 2,5]	6 [4; 10]	4 [2; 6]	0 [0; 1]
Эритроциты, абс. число	0–4	0	0	0

Примечание. РЭ – реснитчатые эпителиоциты, БК – бокаловидные клетки.

Показано, что у детей группы I наблюдалось увеличение количества БК на фоне умеренного содержания РЭ. Эти значения статистически отличались от показателей контрольной группы, что свидетельствовало о снижении эффективности слизисто-реснитчатого транспорта. У 2 (8,3 %) детей этой группы в мазках дополнительно выявлялись эритроциты (0–4 в полях зрения). Их наличие можно объяснить повышенной проницаемостью сосудистой стенки слизистой носовой полости, которая, как правило, имеет место при интоксикациях различного генеза, включая бактериально-вирусные инфекции. В группе II общий клеточный состав был заметно обеднен, несмотря на преобладание в мазках РЭ. У всех пациентов этой группы отмечалась пенетрация клеток воспалительного ряда в эпителиальный пласт. При этом количество лейкоцитов варьировалось (от 2 до 20 в полях зрения). Это подтверждало присоединение аллергического компонента при сопутствующей респираторной инфекции. В группе III клеточный состав слизистой был заметно смещен в сторону БК, что свидетельствовало о значительном перераспределении мерцательного эпителия в пользу слизь-секретирующих клеток и о нарушении дренажной функции слизистой.

У пациентов всех групп среди всего пула клеточных элементов отмечалось различное количество (10–15 %) «оголенных» (т. е. не имеющих ресничек) эпителиоцитов. Известно, что единичные не реснитчатые клетки составляют нормальный цитотип ЦЭ, но повышение их количества указывает на нарушение выведения назального секрета [2, 5]. Примечательно, что утратившие реснички эпителиоидные клетки способны к трансдифференцировке в БК. Увеличение числа последних, как правило, ухудшает работу мукоцилиарного клиренса и является патогномоничным признаком, отражающим состояние слизистой при респираторной патологии.

Метаплазированный (плоский) эпителий в виде клеток-чешуек выявлен у 28 (64,29 %) пациентов из всех анализируемых групп. Однако в группе III количество плоских эпителиоцитов значительно превалировало (от 7 до 20 клеток в полях зрения). Образование этих клеток связывают с повторными рецидивами инфекций респираторного тракта, а также с возможной репродукцией в эпителии слизистой вирусных или бактериальных агентов [12]. Известно, что подобные клеточные элементы в дальнейшем стратифицируются и отделяются от общего пласта, что является маркером нарушения регенерационных процессов эпителия воздухоносных путей [12]. Данный феномен служит дополнительным фактором, наличие которого ухудшает аэродинамическую и дренажную функции верхних отделов респираторного тракта.

АСМ-анализ патоморфоза поверхности цитоплазматической мембраны эпителиоцитов верхних и нижних дыхательных путей. Данный метод использовали для установления возможных причин метаплазии клеток ЦЭ, идентификации маркеров воспалительного ответа, а также для выявления нарушений РЭ на наноуровне.

Анализ количественных показателей топографии поверхности РЭ носовой полости у пациентов показал увеличение значений шероховатости (R_a, R_q, R_{max}) поверхности РЭ только в группах II (R_a – 21,34 ± 7,15 нм; R_q – 26,34 ± 7,86; R_{max} – 124,69 ± 42,37 нм) и III (R_a – 34,94 ± 7,8 нм; R_q – 41,26 ± 7,5; R_{max} – 225,55 ± 44,43 нм) по сравнению с контролем (R_a – 7,22 ± 1,94 нм; R_q – 11,43 ± 1,83; R_{max} – 111,83 ± 29,26 нм). Кроме того, выявлены колебания в параметрах R_{sk} (коэффициент асимметрии) в группах II и III. Более значительные разбежки в значениях R_{sk} установлены в группе III, которые превысили этот показатель у лиц контрольной группы в 3,6 раза (1,2 против 0,33). В группе II данный параметр составил 0,71. Отмеченные вариации указывали на значительную скошенность микропрофилей рельефа влево или вправо. Это свидетельствует о неоднородности поверхности РЭ в группе III и может указывать на грубые нарушения их функции. В отношении другого показателя (W_a) констатировано его снижение только группе III (43,23 ± 12,4 нм) при контрольных значениях 83,81 ± 29,55 нм. Выявленные нарушения являлись результатом отклонения микрогеометрии поверхности РЭ. Данный показатель может быть еще одним дополнительным количественным критерием, отражающим снижение функциональной активности эпителиоидных клеток. Таким образом, по количественным значениям текстурированности и волнистости поверхности эпителиоцитов носовой полости установлено два класса дистрофического изменения клеток ЦЭ: II класс дистрофии (группа II), III класс дистрофии (группа III).

Изучение общей топографии поверхности ЦЭ позволило выявить и идентифицировать специфические клетки воспалительного ряда. Среди них в группе II обнаружены эозинофилы с характерной бугристой поверхностью и единичными глобулами в центральной части цитоплазмы и нейтрофильные гранулоциты с выраженной неоднородным рельефом и гранулярным матриксом (группы I и III).

После анализа общей цитоархитектоники клеток на следующем этапе представлялось актуальным провести углубленное изучение реснитчатого аппарата эпителиоцитов из различных отделов респираторного тракта. В результате выявлен ряд наноструктурных нарушений (табл. 2).

Наноструктурная патология реснитчатого аппарата эпителиоцитов идентифицирована у 10 (23,80 %) детей I и III групп. При этом ни у одного из пациентов группы II (бронхиальная астма) не выявлено каких-либо отклонений в их структуре. Чаще всего регистрировали нарушения, связанные с укорочением ресничек и их одновременным утолщением либо с нормальным сохранением диаметра (7 наблюдений). Эти признаки, как правило, превалировали у детей, в анамнезе которых отмечались рецидивирующий бронхит или пневмония.

Следует отметить, что одновременное наличие нескольких типов наноструктурных нарушений ресничек не выявлено ни в одной из анализируемых групп. Согласно данным ряда авторов,

Таблица 2. **Патоморфоз ресничек эпителиоцитов из носовой полости и трахеи у детей групп I–III**

Table 2. **Cilia pathomorphosis in the nasal and tracheal epithelial cells from groups I–III**

Нарушения реснитчатого аппарата	Группы I, II (*n* = 31)	Группа III (*n* = 11)	
	Назальный эпителий	Назальный эпителий	Трахеальный эпителий
Отсутствие щеточной каймы на апикальной поверхности эпителиоцитов (реснички в виде бугорков или гребневидных выростов)	1 (3,22 %)	–	–
Короткие (2–4 мкм) реснички нормальной толщины (~0,2 мкм)	3 (9,67 %)	–	–
Короткие (2–4 мкм) утолщенные реснички (3–4 мкм) в виде «рогов»	4 (3,22 %)	–	–
Удлиненные (10–12 мкм) реснички переменной толщины (0,2–3 мкм)	–	–	1 (9,09 %)
Удлиненные (10–12 мкм) скученные реснички с варьирующей толщиной (0,095–0,15 мкм)	–	1 (9,09 %)	1 (9,09 %)
Сильно ветвящиеся («лохматые») реснички с булавовидными расширениями на концах	–	1 (9,09 %)	1 (9,09 %)

редукция, укорочение или удлинение ресничек, цилиоцитофтория (т. е. разрежение цилиарного аппарата эпителиоцитов с реорганизацией клеточного ядра и внутрицитоплазматических структур) обусловлены такими неблагоприятными факторами, как вирусные агенты, аллергены, биопленочные микроорганизмы и т. д. [13–15]. Таким образом, изменения архитектуры ресничек (чрезмерно плотная или удлиненная, короткая, «лохматость» цилиарного аппарата) могут рассматриваться как патологический феномен, приводящий к очистительной дисфункции мерцательного эпителия респираторного тракта.

Совершенно иной уникальный тип наноструктурных нарушений установлен у 2 детей группы III. У них реснички располагались хаотично и отмечалось нарушение центра их ветвления,

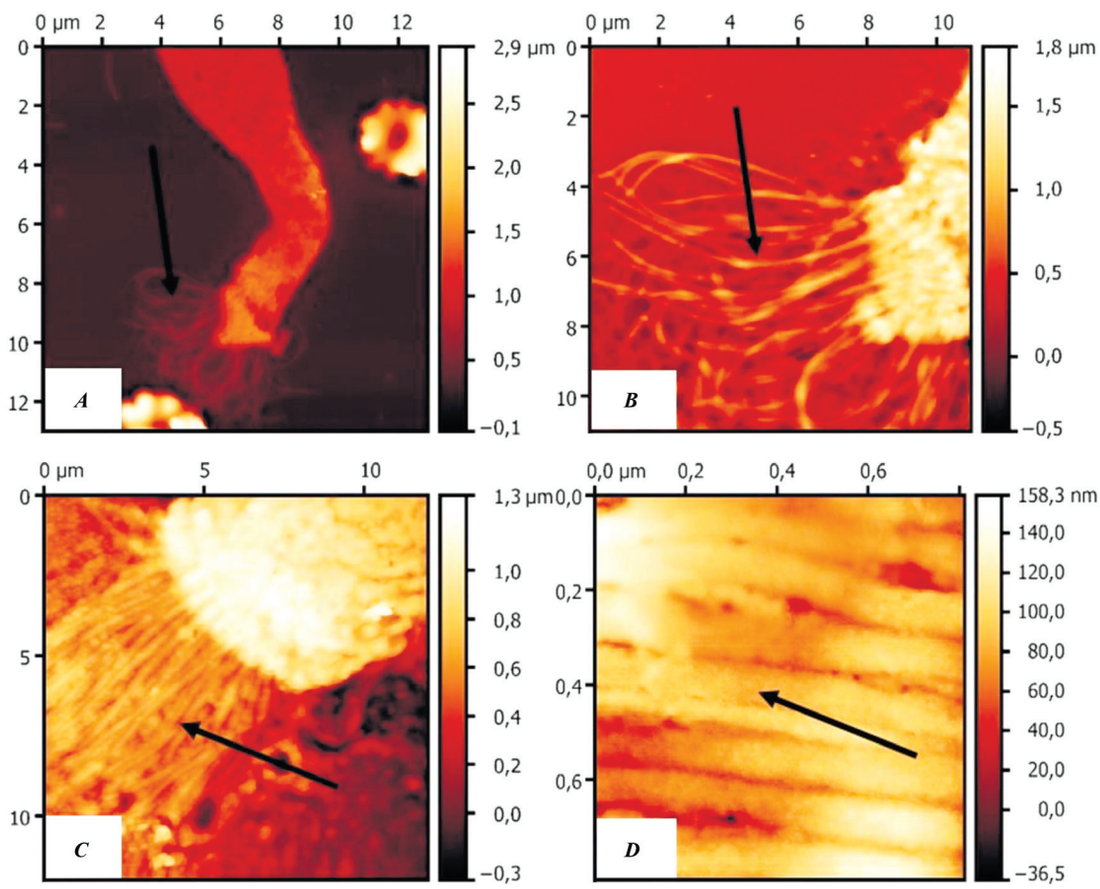


Рис. 1. АСМ-фотографии аномальной организации ресничек у 2 пациентов группы III (*A*, *B*) сравнении с контролем (*C*, *D*)

Fig. 1. AFM photographs of the abnormal organization of cilia in 2 patients of group III) (*A*, *B*) in comparison with control (*C*, *D*)

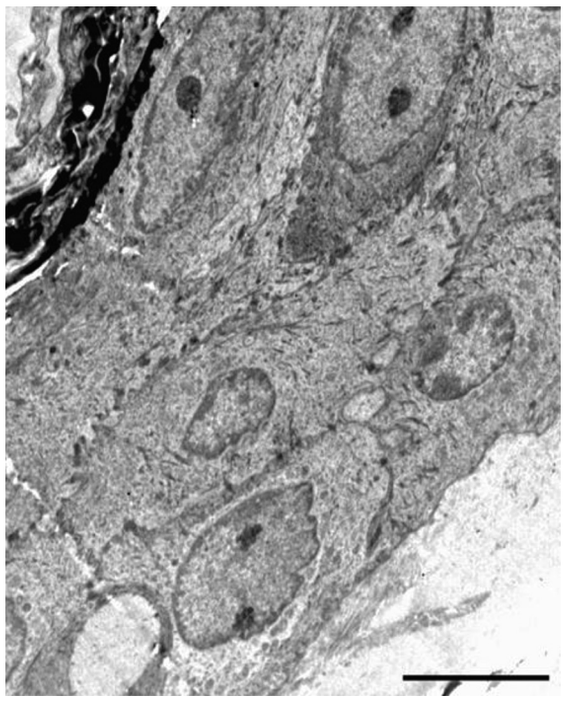


Рис. 1. Клетки эпидермиса (контрольная группа). Электронная микроскопия, длина мерного отрезка 5 мкм

Fig. 1. Cells of the epidermis (control group). Electron microscopy, the length of the measuring section is 5 μm

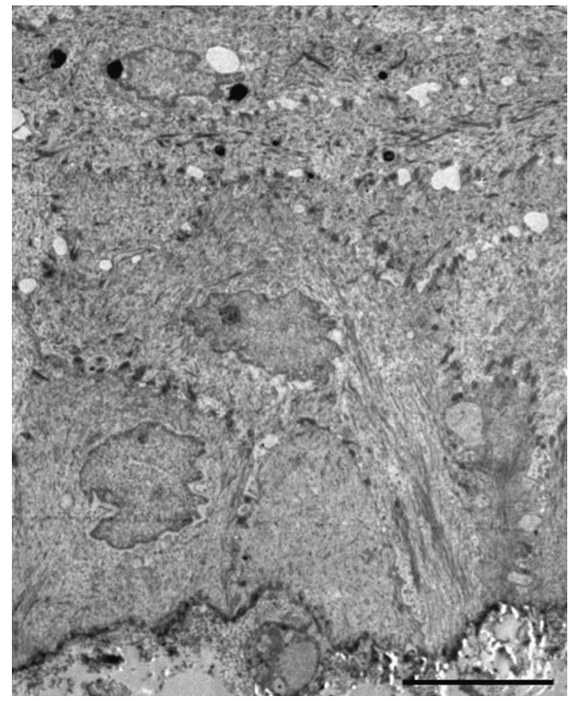


Рис. 2. Клетки эпидермиса (опытная группа). Электронная микроскопия, длина мерного отрезка 5 мкм

Fig. 2. Cells of the epidermis (experimental group). Electron microscopy, the length of the measuring section is 5 μm

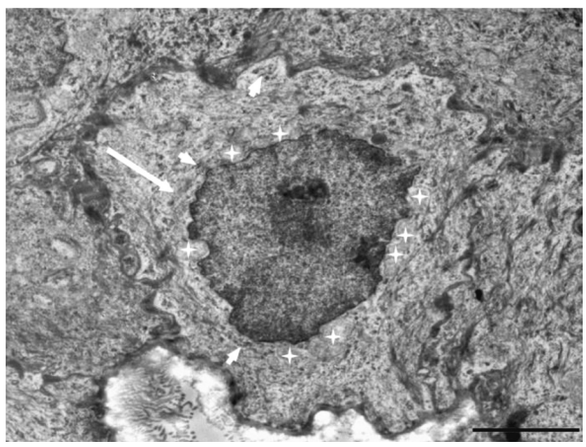


Рис. 3. Базальный кератиноцит (интактная группа): митохондрии – звездочка, КГ – длинная стрелка, ЭПС – короткие стрелки. Электронная микроскопия, длина мерного отрезка 2 мкм

Fig. 3. Basal keratinocyte (control group): mitochondria – asterisk, CG – long arrow and EPS – short arrows. Electron microscopy, length of the measuring section 2 μm

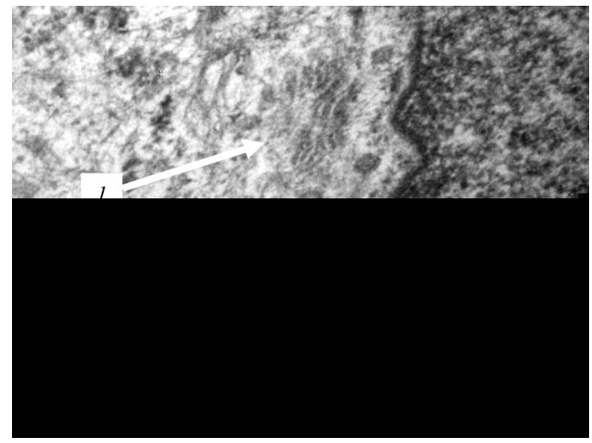


Рис. 4. Базальный кератиноцит (интактная группа): *1* – комплекс Гольджи; *2* – рибосомы; *3* – тонофиламенты. Электронная микроскопия, длина мерного отрезка 0,5 мкм

Fig. 4. Basal keratinocyte (control group). *1* – Golgi complex; *2* – ribosomes; *3* – tonofilaments. Electron microscopy, length 0.5 μm

Отсутствие различий в базальном слое между животными контрольной и опытной групп может свидетельствовать о том, что эти клетки находятся преимущественно в G_0 периоде, отличаются стабильностью своей дифференцировки и отсутствием в их морфологии циркадных изменений.

Выше базальных располагались два, реже три ряда шиповатых клеток. Следует подчеркнуть, что по своему размеру и форме эти кератиноциты мало отличались от базальных. Во всех исследуемых группах клетки шиповатого слоя, в отличие от базального, имели светлое (более богатое эухроматином) ядро и хорошо развитую систему тонофилламентов, что является свидетельством

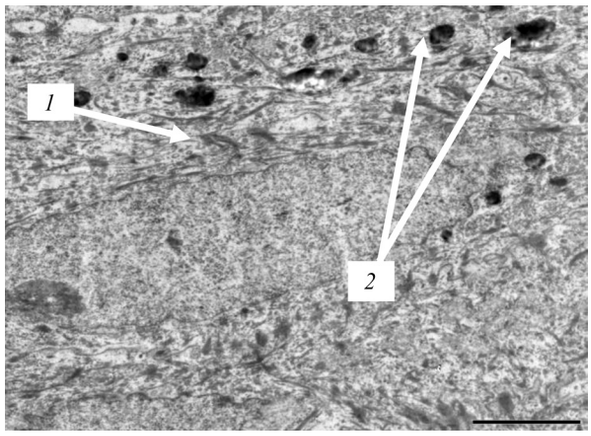


Рис. 5. Шиповатый кератиноцит, в цитоплазме которого хорошо видны пучки тонофилламентов (*1*) и кератогиалиновые гранулы (*2*). Электронная микроскопия, длина мерного отрезка 2 мкм

Fig. 5. Spiny keratinocyte in the cytoplasm of which bundles of tonofillings (*1*) and keratohyalin granules (*2*). Electron microscopy, length of the measuring section 2 microns

начала процесса кератинизации. Редко встречающиеся митохондрии имели овальную или гантелеобразную форму с хорошо выраженными радиально расположенными кристами. Эндоплазматическая сеть была развита слабо и выявлялась лишь в виде отдельных коротких фрагментов. Комплекс Гольджи располагался в околоядерном пространстве и представлял собой совокупность коротких цистерн и канальцев (рис. 5).

Еще одной отличительной чертой шиповатых клеток являлось наличие многочисленных десмосом. В контрольной группе клетки располагались плотно друг к другу. Однако при десинхронозе отмечалось нарушение межкератинозных связей и появление внутриэпидермальных полостей, что хорошо видно на рис. 2. Такое состояние эпидермиса может свидетельствовать о снижении барьерно-защитных свойств кожи, а следовательно, о нарушении ее проницаемости.

Учитывая тот факт, что шиповатые кератиноциты располагаются в несколько рядов, можно отметить некоторые различия в клетках по мере удаления от базального слоя. Так, на рис. 4 хорошо видно, что поверхностные клетки имели более уплощенную форму и в них уже начинали появляться специфические структуры: кератогиалиновые гранулы и ламеллярные тельца (пластинчатые гранулы, гранулы Одланда). Доказано, что наличие этих внутриклеточных компонентов является индикатором дифференцировки эпидермиса.

Кератогиалиновые гранулы представляли собой крупные электронноплотные мелкозернистые образования между пучками тонофилламентов. По мере продвижения к зернистому слою количество и размер гранул возрастали. При нарушении суточных ритмов число кератогиалиновых гранул визуально увеличивалось. Предположительно это может свидетельствовать о более интенсивной кератинизации при десинхронозе.

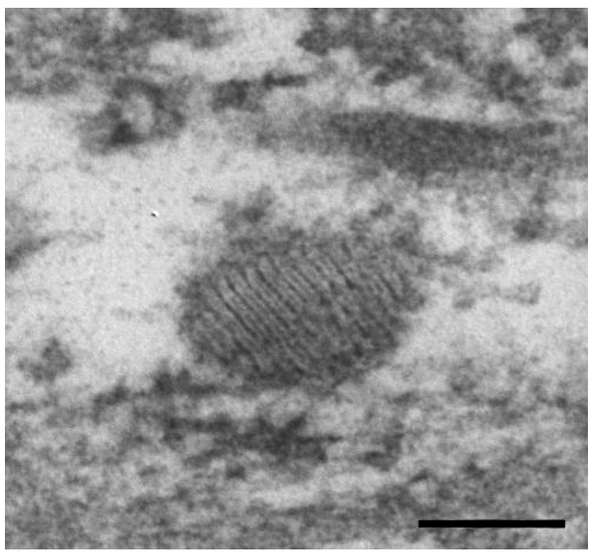


Рис. 6. Ламеллярная гранула (контрольная группа). Электронная микроскопия, длина мерного отрезка 0,1 мкм

Fig. 6. Lamellar granule (control group). Electron microscopy, length of the measuring section 0.1 μm

Гранулы Одланда – это округлые или овальные структуры, окруженные элементарной биологической мембраной. Учитывая тот факт, что они являются основным источником межклеточных липидов в эпидермисе, изучение их ультраструктуры имеет огромное теоретическое и практическое значение.

Внутреннее содержимое ламеллярных гранул представлено плотно упакованными стопками чередующихся светлых и темных пластин. Пластинки представляют собой уплощенные и сложенные липидные везикулы (рис. 6). Такое строение гранул полностью соответствует их оптимальному функциональному состоянию.

При этом гранулы Одланда располагались преимущественно около десмосом на апикальном полюсе клетки (подплазмолеммная локализация). Возле ядра эти структуры встречались в единичных случаях. Следует отметить, что при десинхронозе липидные пластинки ламеллярных телец были выражены менее интенсивно,

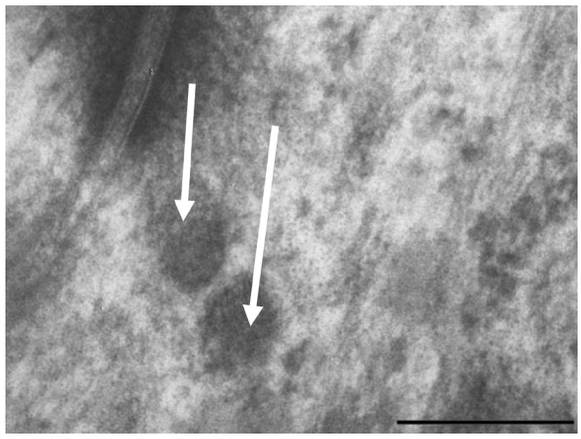


Рис. 7. Ламеллярные гранулы (опытная группа). Электронная микроскопия, длина мерного отрезка 0,2 мкм

Fig. 7. Lamellar granules (experimental group). Electron microscopy, length 0.2 μm

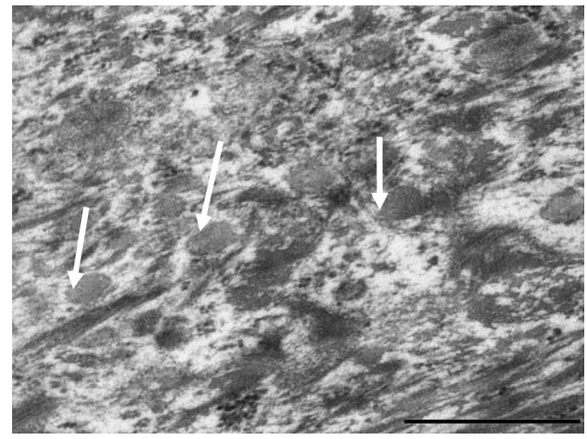


Рис. 8. Большая концентрация гранул Одланда в клетке зернистого слоя (стрелка). Электронная микроскопия, длина мерного отрезка 0,5 мкм

Fig. 8. High concentration of Odland granules in the cell of the granular layer (arrow). Electron microscopy, length of the measuring segment 0.5 μm

упакованы более рыхло, а в некоторых случаях представляли собой прерывистые структуры (рис. 7).

Для более тонкой оценки морфофункционального состояния гранул Одланда в норме и при темновой депривации были проведены морфометрические исследования. Полученные статистические данные подтверждают и визуальные наблюдения. Так, при темновой депривации количество гранул Одланда в клетках зернистого слоя было в 1,14 раза больше ($p = 0,0036$) по сравнению с контролем. Однако их размеры, напротив, значительно уменьшались, что хорошо видно из таблицы. Наблюдались также изменения в степени развития ламеллярных пластинок в самих гранулах, что подтверждают и показатели относительной электронной плотности телец. Наблюдалась тенденция к ее увеличению. Все описанное выше в совокупности может свидетельствовать об изменении их морфофункционального состояния при десинхронозе.

Зернистый слой во всех исследуемых группах был представлен 1–2 рядами уплощенных клеток. В их цитоплазме хорошо визуализировалось большое количество кератогиалиновых гранул и ламеллярных телец, которые располагались более или менее равномерно по всей цитоплазме, но ближе к роговому слою количество гранул Одланда заметно увеличивалось (рис. 8).

Морфометрические показатели гранул Одланда

Morphometric parameters of Odland granules

Морфометрический параметр	Интактный контроль	Темновая депривация
Средняя площадь одного сечения ЛТ, мкм^2	0,0112 (0,010−0,0115)	0,0087 (0,0084–0,0090) $p < 0,0001^*$
Среднее количество ЛТ/100 мкм^2, шт.	78,19 (73,84−82,53)	88,89 (83,27−94,50) $p = 0,0036^*$
Средний диаметр ЛТ, мкм	0,128 (0,126−0,130)	0,113 (0,111−0,115) $p < 0,0001^*$
Эквивалентный диаметр, мкм	0,119 (0,118−0,120)	0,104 (0,103−0,106) $p < 0,0001^*$
Периметр, мкм	0,431 (0,426−0,437)	0,382 (0,375−0,388) $p < 0,0001^*$
Коэффициент округлости	1,154 (1,146−1,162)	1,163 (1,155−1,171) $p = 0,05^*$
Средняя относительная электронная плотность ЛТ	110,95 (108,95−112,95)	113,36 (111,57−115,14) $p > 0,05^*$

Примечание. * − по сравнению с интактным контролем. ЛТ – ламеллярное тело.

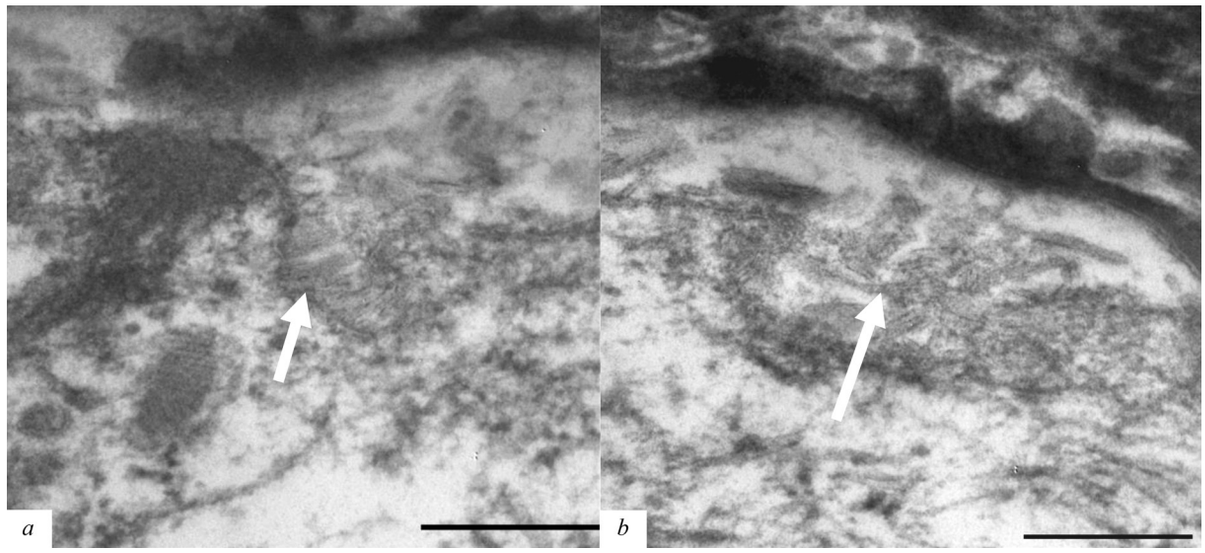


Рис. 9. Выделение содержимого гранул Одланда в межклеточное пространство между зернистым и роговым слоями (контрольная группа): *a* – встраивание ламеллярного тела в цитоплазматическую мембрану кератиноцита (стрелка); *b* – липидные пластинки в межклеточном пространстве (стрелка). Электронная микроскопия, длина мерного отрезка 0,2 мкм

Fig. 9. Isolation of the contents of Odland granules into the intercellular space between the granule and stratum corneum (control group): *a* – embedding of the lamellar body into the cytoplasmic membrane of the keratinocyte (arrow); *b* – lipid plates in the intercellular space (arrow). Electron microscopy, length 0.2 μm

В контрольной группе в кератиноцитах зернистого слоя, расположенных на границе с роговым слоем, отмечался ряд особенностей в распределении ламеллярных телец. Так, практически все гранулы Одланда располагались под оболочкой клеток или встраивались в клеточную стенку и путем экзоцитоза выделяли свое содержимое в межклеточное пространство на границе между зернистым и роговым слоями (рис. 9, *a*, *b*). Этот процесс четко виден на рис. 9, *b*. В межклеточном пространстве наблюдались множественные узкие и мелкие пластинки, аналогичные таковым в гранулах Одланда. Ориентация этих ламеллярных стопок является случайной. При этом в межклеточном пространстве они образуют водонепроницаемый липидный барьер кожи, а также способствуют надежному скреплению между собой роговых чешуек.

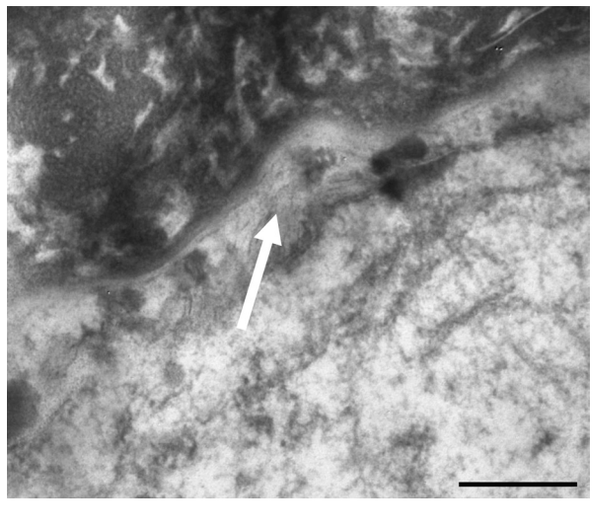


Рис. 10. Липидные пластинки в межклеточном пространстве (опытная группа). Электронная микроскопия, длина мерного отрезка 0,2 мкм

Fig. 10. Lipid plates in the intercellular space (experimental group). Electron microscopy, measuring section length 0.2 μm

При темновой депривации наблюдались некоторые изменения в выделении содержимого ламеллярных гранул в межклеточное пространство между зернистым и роговым слоями. Так, число гранул, встраиваемых в цитоплазматическую мембрану для экзоцитоза, уменьшалось, что в свою очередь приводило к снижению количества свободных ламеллярных структур между клетками зернистого и шиповатого слоев (рис. 10). Это подтверждается также данными о количестве телец. Недостаточный экзоцитоз приводит к накоплению ламеллярных телец внутри клетки, что в свою очередь снижает барьерно-защитные свойства эпидермиса и может привести к развитию определенных кожных патологий.

Роговой слой представлял собой 3–4 слоя корнеоцитов, расположенных рыхло, с хорошо выраженными промежутками между слоями. Границы клеток не визуализировались из-за большого содержания кератогиалина.

Заключение. Таким образом, наблюдаемые при десинхронозе множественные изменения в ультраструктуре кератиноцитов могут свидетельствовать о существенных системных нарушениях в эпидермисе в целом. При этом трансформации затрагивают преимущественно клетки шиповатого и зернистого слоев, в частности ламеллярные тельца. Количество последних при темновой депривации увеличивается за счет недостаточного экзоцитоза в межклеточное пространство между роговым и зернистым слоями, что может свидетельствовать о нарушении внутриклеточного синтеза и секреции липидов.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Благодарности. Работа выполнена в рамках задания ГПНИ Республики Беларусь на 2019–2020 гг. «Оценить воздействие экспериментального десинхроноза на морфофункциональные и молекулярногенетические показатели липидного обмена в общем покрове».

Acknowledgements. This work was carried out as part of the assignment of the State Program of Scientific Research of the Republic of Belarus for 2019–2020. “To evaluate the effect of experimental desynchronosis on the morphofunctional and molecular genetics parameters of lipid metabolism in the general cover”.

Список использованных источников

1. Надольник, Л. И. Стресс и щитовидная железа / Л. И. Надольник // Биомед. химия. – 2010. – Т. 56. – Вып. 4. – С. 443–456.

2. Хныченко, Л. К. Стресс и его роль в развитии патологических процессов / Л. К. Хныченко, Н. С. Сапронов // Обзоры по клин. фармакологии и лекарств. терапии. – 2003. – Т. 2, № 3. – С. 2–15.

3. Мяделец, О. Д. Морфофункциональная дерматология / О. Д. Мяделец, В. П. Адаскевич. – М. : Медлит, 2006. – 752 с.

4. Норлен, Л. Новые взгляды на формирование, структуру и функционирование кожного барьера и их практическая ценность / Л. Норлен // Косметика и медицина. – 2002. – № 5. – С. 8–16.

5. Breathnach, A. S. Aspects of epidermal ultrastructure / A. S. Breathnach // J. Invest. Dermatol. – 1975. – Vol. 65, N 1. – P. 2–15. https://doi.org/10.1111/1523-1747.ep12598018

6. Castiel-Higounenc, I. Stratum corneum lipids: specificity, role, deficiencies and modulation / I. Castiel-Higounenc, M. Chopart, C. Ferraris // Oléagineux, Corps gras, Lipides. – 2004. – Vol. 11, N 6. – P. 401–406. https://doi.org/10.1051/ocl.2004.0401

7. Composition and morphology of epidermis cyst lipids / P. W. Werts [et al.] // J. Invest. Dermatol. – 1987. – Vol. 89, N 4. – P. 419–425. https://doi.org/10.1111/1523-1747.ep12471781

8. Elias, P. Skin barrier / P. Elias, R. Feingold. – San Francisco : Informa Healthcare, 2005. – 634 p.

9. Feingold, K. R. The outer frontier: the importance of lipid metabolism in the skin / K. R. Feingold // J. Lipid Res. – 2009. – Vol. 50. – P. S417–S422. https://doi.org/10.1194/jlr.r800039-jlr200

10. Freinkel, K. Biology of the skin / K. Freinkel. – New York : Informa, 2001. – 432 p.

11. Human skin surface lipid film: an ultrastructural study and interaction with corneocytes and intercellular lipid lamellae of the stratum corneum / H.-M. Sheu [et al.] // Brit. J. Dermatol. – 1999. – Vol. 140, N 3. – P. 385–391. https://doi.org/10.1046/j.1365-2133.1999.02697.x

12. Madison, K. C. Barrier function of the skin: “La Raison d’Etre” of the epidermis / K. C. Madison // J. Invest. Dermatol. – 2003. – Vol. 121, N 2. – P. 231–141. https://doi.org/10.1046/j.1523-1747.2003.12359.x.

13. Phase behavior of isolated skin lipids / J. A. Bouwstra [et al.] // J. Lipid Res. – 1996. – Vol. 37, N 5. – P. 999–1011.

14. Plasencia, I. Direct visualization of lipid domains in human skin stratum corneum’s lipid membranes: effect of pH and temperature / I. Plasencia, L. Norlén, L. A. Bagatolli // Biophys. J. – 2007. – Vol. 93, N 9. – P. 3142–3155. https://doi.org/10.1529/biophysj.106.096164

References

1. Nadol’nik L. I. Stress and thyroid gland. *Biomeditsinskaya khimiya* [Biomedical chemistry], 2010, vol. 56, no. 4, pp. 443–456 (in Russian).

2. Khnychenko L. K., Sapronov N. S. Stress and its role in the development of pathological processes. *Obzory po klinicheskoi farmakologii i lekarstvennoi terapii* [Reviews of clinical pharmacology and drug therapy], 2003, vol. 2, no. 3, pp. 2–15 (in Russian).

3. Myadelets O. D., Adaskevich V. P. *Morphofunctional dermatology.* Moscow, Medlit Publ., 2006. 752 p. (in Russian).

4. Norlen L. New views on the formation, structure and functioning of the skin barrier and their practical value. *Kosmetika i meditsina* [Cosmetics and medicine], 2002, no. 5, pp. 8–16 (in Russian).

5. Breathnach A. S. Aspects of epidermal ultrastructure. *Journal of Investigative Dermatology*, 1975, vol. 65, pp. 2–15. https://doi.org/10.1111/1523-1747.ep12598018

6. Castiel-Higounenc I., Chopart M., Ferraris C. Stratum corneum lipids: specificity, role, deficiencies and modulation. *Oléagineux, Corps gras, Lipides*, 2004, vol. 11, no. 6, pp. 401–406. https://doi.org/10.1051/ocl.2004.0401

7. Werts P. W. Schwartzendruber D. C., Madison K. C., Downing D. T. Composition and morphology of epidermis cyst lipids. *Journal of Investigative Dermatology*, 1987, vol. 89, no. 4, pp. 419–425. https://doi.org/10.1111/1523-1747.ep12471781

8. Elias P., Feingold R. *Skin barrier*. San Francisco, Informa Healthcare, 2005. 634 p.

9. Feingold K. R. The outer frontier: the importance of lipid metabolism in the skin. *Journal of Lipid Research*, 2009, vol. 50, pp. S417−S422. https://doi.org/10.1194/jlr.r800039-jlr200

10. Freinkel K. *Biology of the skin.* New York, Informa, 2001. 432 p.

11. Sheu H.-M., Chao S. C., Wong T. W., Yu-Yun Lee J., Tsai J. C. Human skin surface lipid film: an ultrastructural study and interaction with corneocytes and intercellular lipid lamellae of the stratum corneum. *British Journal of Dermatology*, 1999, vol. 140, no. 3, pp. 385−391. https://doi.org/10.1046/j.1365-2133.1999.02697.x

12. Madison K. C. Barrier function of the skin: "La Raison d'Etre" of the epidermis. *Journal of Investigative Dermatology*, 2003, vol. 121, no. 2, pp. 231–141. https://doi.org/10.1046/j.1523-1747.2003.12359.x

13. Bouwstra J. A., Gooris G. S., Cheng K., Weerheim A., Bras W., Ponec M. Phase behavior of isolated skin lipids. *Journal of Lipid Research*, 1996, vol. 37, no. 5, pp. 999–1011.

14. Plasencia I., Norlén L., Bagatolli L. A. Direct visualization of lipid domains in human skin stratum corneum's lipid membranes: effect of ph and temperature. *Biophysical Journal*, 2007, vol. 93, no. 9, pp. 3142–3155. https://doi.org/10.1529/biophysj.106.096164

Информация об авторах

Соболевская Ирина Сергеевна – канд. биол. наук, доцент. Витебский государственный медицинский университет (пр-т Фрунзе, 27, 210023, г. Витебск, Республика Беларусь). E-mail: irinabelikovavgmu@yandex.ru

Мяделец Олег Данилович – д-р мед. наук, профессор, заведующий кафедрой. Витебский государственный медицинский университет (пр-т Фрунзе, 27, 210023, г. Витебск, Республика Беларусь).

Островская Оксана Борисовна – канд. биол. наук. Гродненский государственный медицинский университет (ул. Горького, 80, 230009, г. Гродно, Республика Беларусь).

Information about the authors

Irina S. Sobolevskaya – Ph. D. (Biol.), Associate Professor. Vitebsk State Medical University (27, Frunze Ave., 210023, Vitebsk, Republic of Belarus). E-mail: irinabelikovavgmu@yandex.ru

Oleg D. Myadelets – D. Sc. (Med.), Professor, Head of the Department. Vitebsk State Medical University (27, Frunze Ave., 210023, Vitebsk, Republic of Belarus).

Oksana B. Ostrovskaya – Ph. D. (Biol.). Grodno State Medical University (80, Gorki Ave., 230009, Grodno, Republic of Belarus).

ISSN 1814-6023 (Print)
ISSN 2524-2350 (Online)
УДК 616.022:578.833.26
https://doi.org/10.29235/1814-6023-2021-18-1-89-93

Поступила в редакцию 07.09.2020
Received 07.09.2020

Ш. Т. Ниязов, А. Т. Джурабекова, Д. С. Шомуродова

Самаркандский государственный медицинский институт, Самарканд, Республика Узбекистан

КОМПЛЕКСНЫЙ ПРОГНОЗ ПОСЛЕДСТВИЙ ВТОРИЧНОГО ЭНЦЕФАЛИТА У ДЕТЕЙ

Аннотация. В работе представлен анализ обследования детей с последствием вторичного энцефалита, от начала острого периода которого прошло от более чем 6 мес. до 1 года. Изучена степень неврологических нарушений, проведено нейровизуализационное сравнение и сделан прогноз в зависимости от этих показателей для своевременной нейрометаболической терапии.

Цель нашего исследования – дать комплексный прогноз последствий вторичного энцефалита у детей.

В основную группу вошли 58 детей (37 % девочек, 63 % мальчиков) с последствиями перенесенного энцефалита, в контрольную – здоровые дети, идентичные по возрасту (3–10 лет). Все поступившие в стационар дети прошли стандартное обследование (с учетом анамнеза), клинико-неврологический осмотр, нейровизуализационное (МРТ, КТ) исследование. Помимо этого всем детям на электромиографии определяли соматосенсорный вызванный потенциал как при поступлении, так и при выписке.

Результаты нашего исследования показали, что прогноз только по клинико-неврологическим нарушениям дает 66,2 %, дополнительная нейровизуализационая оценка позволяет увеличить его до 79 %, а с учетом менингиально-соматосенсорных показателей – еще на 12 %, что очень важно для проведения своевременной нейрометаболической терапии. В свою очередь прогноз исхода энцефалита у детей позволит своевременно снизить резидуальные неврологические проявления.

Ключевые слова: вторичный энцефалит, дети, диагностика, прогноз, терапия

Для цитирования: Ниязов, Ш. Т. Комплексный прогноз последствий вторичного энцефалита у детей / Ш. Т. Ниязов, А. Т. Джурабекова, Д. С. Шомуродова // Вес. Нац. акад. навук Беларусі. Сер. мед. навук. – 2021. – Т. 18, № 1. – С. 89–93. https://doi.org/10.29235/1814-6023-2021-18-1-89-93

Shukhrat T. Niyozov, Aziza T. Djurabekova, Dilnoza S. Shomurodova

Samarkand State Medical Institute, Samarkand, Republic of Uzbekistan

COMPREHENSIVE PROGNOSIS OF THE CONSEQUENCES OF SECONDARY ENCEPHALITIS IN CHILDREN

Abstract. The paper presents the analysis of a study of children with secondary encephalitis, depending on the beginning of the acute period of which more than 6 months – a year has passed, the degree of neurological disorders, neuroimaging comparison and prediction depending on these indicators for timely neurometabolic therapy.

The purpose of our study was to study the complex prognosis of the consequences of secondary encephalitis in children. We observed 58 children with a consequence of encephalitis.

The total number of girls is 37 %, boys are 63 % which are the main group of patients. The control group of children are healthy identical in age 3–10 years. All children admitted to the hospital underwent a standard examination, anamnesis, clinical and neurological examination, and neuroimaging (MRI, CT) studies. In addition, all children were determined on electromyography somatosensory evoked potential, including at admission, as well as at discharge.

The results of our study revealed that the prognosis only for clinical and neurological disorders gives 66.2 %, with the addition of neuroimaging assessment increased to 79 %, and meningial-somatosensory indicators still increases the forecast by 12 %, which is very important for timely neurometabolic therapy. In turn, the prognosis of the outcome of encephalitis in children will allow timely reduction of residual neurological manifestations.

Keywords: secondary encephalitis, children, diagnosis, prognosis, therapy

For citation: Niyozov Sh. T., Djurabekova A. T., Shomurodova D. S. Comprehensive prognosis of the consequences of secondary encephalitis in children. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seriya meditsinskikh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2021, vol. 18, no. 1, pp. 89–93 (in Russian). https://doi.org/10.29235/1814-6023-2021-18-1-89-93

© Ниязов Ш. Т., Джурабекова А. Т., Шомуродова Д. С., 2021

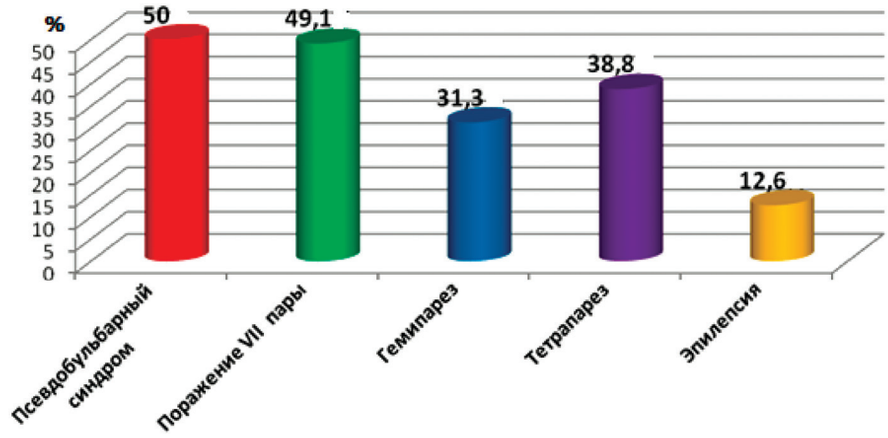
Введение. По данным ВОЗ, 80 % нарушений ЦНС как последствия энцефалита выявляются у детей. При этом поражения ЦНС в детском возрасте при данной патологии отличаются особой тяжестью неврологических осложнений [1, 2] и повышением степени инвалидизации и летальности. Это связано с особым строением гематоэнцефалического барьера (скорее, его недоразвития) у детей, что приводит к некротическим нарушениям и формированию очага распада мозгового вещества [3], которое впоследствии преобразуется в кистозное образование (по литературным данным, больше в височных долях). Приводятся данные и об этиологическом факторе. Так, более 50 % энцефалитов – это, как правило, последствия гриппа, второе место занимают последствия, обусловленные вирусом герпеса [3, 4]. На сегодня актуален вопрос о детских инсультах, обусловленных бактериальными или вирусными энцефалитами, вследствие чего развиваются острые менингоэнцефалиты, которые вызывают грубые нарушения ЦНС у детей, а зачастую имеют летальный исход [5].

Актуальным вопросом проблемы нейроинфекций у детей является прогнозирование исходов в ранние сроки заболевания, что позволит своевременно проводить коррекцию терапии для уменьшения резидуальных неврологических нарушений [6]. И важная роль в этом процессе отводится, конечно же, диагностике. Тяжесть поражения мозга при энцефалите зависит от нескольких факторов и степени поражения нейронов ЦНС в ответ на нейроинфекцию. Однозначно, метод нейровизуализации (МРТ, КТ) позволяет оценить распространенность воспалительного поражения структуры мозга, остроту процесса и отследить динамику развития очагов в период лечения. В то же время данный метод не позволяет оценить функциональное состояния ЦНС при энцефалите так, как электроэнцефалография (ЭЭГ) [7, 8]. По данным L. Kepa (2000), ЭЭГ точно прогнозирует заболевание в 45 % наблюдений, а в острый период данные ЭЭГ могут быть неспецифическими. По литературным данным, состояние проводящих афферентных систем головного мозга и состояние нейрональных центров возможно методом определения вызванных потенциалов (ВП). Эти же источники сообщают о применении ВП в нейроинфекционной практике [6, 9].

Цель исследования – дать комплексный прогноз последствий вторичного энцефалита у детей.

Материалы и методы исследования. Под нашим наблюдением находились 58 детей (37 % девочек, 63 % мальчиков) с последствиями перенесенного энцефалита (основная группа). В остром периоде большинство детей лечились по месту жительства, 15 % находились в детской многопрофильной больнице г. Самарканда, 5 % – в экстренной больнице г. Самарканда, по истечении 5–8 мес. (иногда года) – в детском неврологическом отделении 1-й клиники Самаркандского государственного медицинского интститута. Период исследования – 2018–2020 гг. В контрольную группу вошли здоровые дети, идентичные по возрасту (3–10 лет). Все поступившие в стационар дети прошли стандартное обследование, клинико-неврологический осмотр, нейровизуализационное исследование (МРТ, КТ). Дети основной группы были разделены на две подгруппы: 1-я подгруппа – 18 детей, у которых от начала заболевания острого периода прошло 6 мес., 2-я подгруппа – 40 детей, болевших от более чем 6 мес. до 1 года. Наряду с нейроклиническими и нейровизуализационными обследованиями всем детям на электромиографии определяли соматосенсорный ВП как при поступлении, так и при выписке. За норму брали показатель амплитуды 3–5 мкВ коркового потенциала и рассчитывали центральное афферентное проведение в зависимости от возраста. Для статистической обработки данных использовали методы анализа по Спирмену, достоверность оценивали по Фиккру [10, 11].

Результаты и их обсуждение. Во время осмотра больных детей выявлены очаговые неврологические симптомы, выраженные различными синдромами (см. рисунок). Четкие менингиальные симптомы отсутствовали, но в 39 % случаев отмечалась децеребрационная ригидность. Среди черепно-мозговых изменений – высокий процент амавроза (дети чаще всего не фиксируют взгляд), по результатам осмотра офтальмолога в 23,8 % случаев подтверждается атрофия зрительных нервов, у 2 пациентов – парез взора (осмотр ограничен из-за отсутствия контакта с пациентом), у всех детей – потеря приобретенных навыков, в 100 % случаев – задержка психоречевого развития. Тяжелым, на наш взгляд, являлось нарушение глотания по псевдобульбарному типу, дети долго держали пищу во рту, могли проглотить только в жидком виде, налицо симптомы дисфагии (50 %), парез VII пары (49,1 %), нейросенсорная тугоухость III–IV степени (у пациентов в более



Очаговые неврологические симптомы, выраженные различными синдромами

Focal neurological symptoms, expressed by various syndromes

младенческом возрасте не было возможности провести аудиометрию, проводилась у детей старшего возраста). Стойкие двигательные нарушения в 38,8 % случаев проявлялись в виде центрального спастического тетрапареза, в меньшей степени (31,3 %) – в виде гемипареза. В остальных случаях отмечались смешанные симптомы: тетрапарез с гиперкинетическим синдромом или тетрапарез с атакты-гиперинетическим синдромом. Гипотоно-гиперкинетический синдром отмечался у 4 детей, атотический-астатический синдром – у 5 пациентов. У всех обследованных наблюдалось резкое увеличение сухожильных рефлексов на пастической стороне, на этих же участках четко прослеживались патологические рефлексы. Патологическая сторона имела высокий тонус, отличалась не грубой, но заметной атрофией мышц на стороне пареза, в 60,2 % случаев наблюдалась контрактура конечностей, особенно при спастическом тетрапарезе (пациенты скрещивали ноги при любой попытке до них дотронуться). Клонус отмечался в 25,5 % случаев, защитный рефлекс – в 16,9 %.

Чувствительные нарушения у таких пациентов проследить не удалось из-за сниженного интеллекта и возрастной категории, но чаще на инъекционные процедуры дети реагировали плачем, двигательным беспокойством. Так как дети обследуемой группы находились в резидуальном положении, мы постарались определить уровень нарушения высших корковых функций. Выраженная задержка психоречевого развития выявлена у 40 % детей (в основном у детей с тетрапарезом), деменция – в 11 % случаев, средний уровень задержки – в 9,1 %, эпилептические приступы – в 12,6 %. В период восстановления отмечались симптоматическая эпилепсия (78,5 %), проявляющаяся в виде парциальных или вторично-генерализованных приступов.

Важным и достоверным способом диагностики пациентов с последствиями энцефалитов и менингоэнцефалитов является нейровизуализация (МРТ и КТ обследование). В 23,3 % случаев исходом энцефалита являлась окклюзионная гидроцефалия, в 78,7 % – атрофия мозга, в 55,7 % – гидроцефалия, различная степень вентрикулоделатация (у 9 детей), вторичные пар-энцефалические кисты (8,5 %), у 3 больных выявлена хроническая субдуральная гематома. В 15 % случаев отмечалась выраженная кистозно-глиазная трансформация в обеих полушариях, в 7,5 % – расширение ликворных пространств.

Соотношение прогнозируемых и реальных исходов энцефалита (n = 58) приведено в табл. 1.

Таблица 1. **Соотношение прогнозируемых и реальных исходов энцефалита (n = 58)**

Table 1. **Ratio of predicted and actual outcomes of encephalitis (n = 58)**

Исход	Правильно диагностировано предложенным методом, %	Ложноположительные* и ложноотрицательные** результаты, %	Настоящие исходы заболевания, %
Благоприятный исход*	33	2	42
Неблагоприятный исход**	48	28	528

При диагностировании эффективности различных методов прогнозирования исходов вирусных энцефалитов у детей (n = 58) определяли показатели специфичности, чувствительности и эффективности при клинико-неврологических нарушениях, нарушениях по МРТ, комплексном анализе клинико-неврологических МРТ и функциональных нарушений (табл. 2).

Таблица 2. **Диагностическая эффективность различных методов прогнозирования исходов вирусных энцефалитов у детей (n = 58)**

Table 2. **Diagnostic efficiency of various methods for predicting the outcomes of viral encephalitis in children (n = 58)**

Показатель	Клинико-неврологические нарушения, %	Нарушения по МРТ, %	МРТ, %	Комплексный анализ клинико-неврологических МРТ и функциональных нарушений, %
Специфичность	90,0	75,5	79,1	92,2
Чувствительность	43,0	22,0	49,0	64,4
Эффективность	66,2	68,5	79,0	85,8

Эффективность использования метода исследования соматосенсорных потенциалов показал более 90 % достоверности, особенно при прогнозе благоприятного исхода энцефалита. Благоприятный исход энцефалита по данным критериям прогнозировали у детей с последствием нейроинфекции первые 6 мес. В соответствии со шкалой прогноза, это дети с умеренной неврологической симптоматикой, наличием 1–2 очагов на МРТ, корковым потенциалом свыше 3 мкВ, увеличивающимся на 15 % от начальных цифр. Неблагоприятный исход отмечался у детей с очаговыми нарушениями, длительность которых превалировала в течение 8–12 мес. от начала заболевания. У таких пациентов отмечались остаточные очаговые неврологические проявления (судорожный синдром), на МРТ – более 3–5 очагов, снижение амплитуды коркового потенциала ниже 3 мкВ и, соответственно, отрицательная динамика.

Полного выздоровления не наблюдалось. Положительная динамика с частичным исчезновением неврологической симптоматики отмечалась у 23 % детей, у которых от начала заболевания прошло 6 мес., т. е. в 1-й подгруппе. Неблагоприятный исход наблюдался у заболевших в сроки от более чем 6 мес. до 1 года пациентов, имевших стойкие очаговые неврологические нарушения (55 % случаев), остаточные явления (25 % случаев), судорожный синдром (2-я подгруппа).

Прогноз только по клинико-неврологическим нарушениям дает 66,2 %, дополнительная нейровизуализационая оценка позволяет увеличить его до 79 %, а с учетом менингиально-соматосенсорных показателей – еще на 12 %, что очень важно для проведения своевременной нейрометаболической терапии.

Выводы

1. Для правильного подбора коррекции нейрометаболической терапии у детей с последствиями перенесенного энцефалита необходима комплексная оценка тяжести их состояния с учетом возраста ребенка, клинико-неврологических нарушений, данных МРТ и соматосенсорных вызванных потенциалов.

2. Прогноз исхода энцефалита у детей позволит своевременно снизить резидуальные неврологические проявления.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список использованных источников

1. Неврологические проявления хронического лайм-боррелиоза / А. Л. Бондаренко [и др.] // Инфекц. болезни. – 2016. – Т. 4, № 3. – С. 60–63.

2. Гусев, Е. И. Демиелинизирующие заболевания центральной нервной системы / Е. И. Гусев, А. Н. Бойко // Consilium Medicum. – 2009. – Т. 2, № 2. – С. 84–88.

3. Мироненко, Т. В. Вирусные энцефалиты, вопросы диагностики и лечения / Т. В. Мироненко, Г. А. Погорелова // Укр. мед. альманах. – 2012. – Т. 15, № 2. – С. 107–110.

4. Оленькова, О. М. Клинико-иммунологические особенности менингеальной формы энтеровирусной инфекции (ECHO- и Коксаки В-вирусной этиологии) у детей : дис. … канд. мед. наук : 14.01.08 / О. М. Оленькова. – Екатеринбург, 2015. – 203 л.

5. Kalita, J. Neurophysiological changes in Japanese encephalitis / J. Kalita, U. K. Misra // Neurol. India. – 2002. – Vol. 50, N 2. – P. 262–266.

6. Хмара, М. Е. Сравнительная клинико-морфологическая характеристика острого и хронического герпетических энцефалитов / М. Е. Хмара // Белорус. мед. журн. –2004. – № 3 (9). – С. 108–110.

7. Старшинов, Я. Ю. Клинико-лучевые и иммунологические особенности энцефаломиелитов у детей : автореф. дис. ... канд. мед. наук : 14.00.13, 14.00.10 / Я. Ю. Старшинов ; Санкт-Петерб. гос. педиатр. мед. акад. – СПб., 2003. – 23 с.

8. Савина, М. В. Роль вызванных потенциалов мозга в прогнозировании течения и исходов энцефалитов у детей : дис. ... канд. мед. наук : 14.00.13 / М. В. Савина. – СПб., 2009. – 167 л.

9. Гладкий, П. А. Инфекционные поражения головного мозга : учеб. пособие / П. А. Гладкий, И. Г. Сергеева, А. А. Тулупов. – Новосибирск : Новосибирский гос. ун-т, 2015. – 23 с.

10. Нейроинфекции у детей в современных условиях / Н. В. Скрипченко [и др.] // Практ. медицина. – 2017. – № 10. – С. 7–15.

11. Childhood encephalitis in Sweden: etiology, clinical presentation and outcome / Å. Fowler [et al.] // Eur. J. Paediatr. Neurol. – 2008. – Vol. 12, N 6. – P. 484–490. https://doi.org/10.1016/j.ejpn.2007.12.009

References

1. Bondarenko A. L., Bystrykh N. Yu., Lyubeznova O. N., Tikhomolova E. G., Novoselov A. I. Neurological manifestations of chronic Lyme borreliosis. *Infektsionnye bolezni* [Infectious diseases], 2016, vol. 4, no. 3, pp. 60–63 (in Russian).

2. Gusev E. I., Boiko A. N. Demyelinating diseases of the central nervous system. *Consilium-Medicum* [Consilium-Medicum], 2009, vol. 2, no. 2, pp. 84–88 (in Russian).

3. Mironenko T. V., Pogorelova G. A. Viral encephalitis, issues of diagnosis and treatment. *Ukraïns'kii medichnii al'manakh* [Ukrainian medical almanac], 2012, vol. 15, no. 2, pp. 107–110 (in Russian).

4. Olen'kova O. M. *Clinical and immunological features of the meningeal form of enterovirus infection (ECHO- and Coxsacki B-viral etiology) in children.* Ph. D. Thesis. Ekaterinburg, 2015. 203 p. (in Russian).

5. Kalita J., Misra U. K. Neurophysiological changes in Japanese encephalitis. Neurology India, 2002, vol. 50, no. 2, pp. 262–266.

6. Khmara M. E. Comparative clinical and morphological characteristics of acute and chronic herpetic encephalitis. *Belorusskii meditsinskii zhurnal* [Belarusian medical journal], 2004, no. 3 (9), pp. 108–110 (in Russian).

7. Starshinov Ya. Yu. *Clinical and radiation and immunological features of encephalomyelitis in children.* Abstract of Ph. D. diss. St. Petersburg, 2003. 23 p. (in Russian).

8. Savina M. V. *The role of evoked brain potentials in predicting the course and outcomes of encephalitis in children.* Ph. D. Thesis. St. Petersburg, 2009. 167 p. (in Russian).

9. Gladkii P. A., Sergeeva I. G., Tulupov A. A. *Infectious lesions of the brain*. Novosibirsk, Novosibirsk State University, 2015. 23 p. (in Russian).

10. Skripchenko N. V., Vil'nits A. A., Skripchenko E. Yu., Ivanova M. V., Karev V. E., Gorelik E. Yu., Bukhalko M. A. Neuroinfection in children in modern conditions. *Prakticheskaya meditsina* [Practical medicine], 2017, no. 10, pp. 7–15 (in Russian).

11. Fowler Å., Stödberg T., Eriksson M., Wickström R. Childhood encephalitis in Sweden: Etiology, clinical presentation and outcome. *European Journal of Paediatric Neurology*, 2008, vol. 12, no. 6, pp. 484–490. https://doi.org/10.1016/j.ejpn.2007.12.009

Информация об авторах

Ниязов Шухрат Тоштемирович – канд. мед. наук, ассистент. Самаркандский государственный медицинский институт (ул. Амира Тимура, 18, г. Самарканд, Республика Узбекистан). E-mail: niezovsucrat@gmail.ru

Джурабекова Азиза Тахировна – д-р мед. наук, профессор, заведующий кафедрой. Самаркандский государственный медицинский институт (ул. Амира Тимура, 18, г. Самарканд, Республика Узбекистан). E-mail: klinikasammi@mail.ru

Шомуродова Дильноза Салимовна – канд. мед. наук, ассистент. Самаркандский государственный медицинский институт (ул. Амира Тимура, 18, г. Самарканд, Республика Узбекистан). E-mail: shomuradova.dilnoza@sammi.uz

Information about the authors

Shukhrat T. Niyozov – Ph. D. (Med.), Assistant. Samarkand State Medical Institute (18, Amir Timur Str., Samarkand, Republic of Uzbekistan). E-mail: niezovsucrat@gmail.ru

Aziza T. Djurabekova – D. Sc. (Med.), Professor, Head of the Department. Samarkand State Medical Institute (18, Amir Timur Str., Samarkand, Republic of Uzbekistan). E-mail: klinikasammi@mail.ru

Dilnoza S. Shomurodova – Ph. D. (Med.), Assistant. Samarkand State Medical Institute (18, Amir Timur Str., Samarkand, Republic of Uzbekistan). E-mail: shomuradova.dilnoza@sammi.uz

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

АГЛЯДЫ
REVIEWS

УДК 616.379-008.64-053.31-06:616.1
https://doi.org/10.29235/1814-6023-2021-18-1-94-108

Поступила в редакцию 03.09.2020
Received 03.09.2020

В. А. Прилуцкая, А. В. Сукало, Т. А. Деркач

Белорусский государственный медицинский университет, Минск, Республика Беларусь

АДАПТАЦИЯ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТОЙ СИСТЕМЫ МЛАДЕНЦЕВ, РОЖДЕННЫХ МАТЕРЯМИ С САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ

Аннотация. По данным статистики, сахарный диабет (СД) осложняет от 2 до 3 % всех беременностей. Несмотря на относительно небольшой процент распространенности в общей популяции, СД в период беременности оказывает существенное влияние на рост и развитие плода и ассоциирован с повышенным риском врожденных пороков развития, увеличением частоты перинатальной заболеваемости и смертности. Наибольшее влияние гипергликемия в период беременности оказывает на сердечно-сосудистую систему плода, вызывая увеличение частоты врожденных пороков сердца на ранних этапах эмбрионального развития и различного рода структурные и функциональные изменения в растущем сердце во втором и третьем триместрах беременности.

В данном обзоре систематизированы данные научной литературы о патогенетических аспектах и молекулярных механизмах влияния гипергликемии на развитие сердца плода с целью оценить клинические, эхокардиографические и некоторые лабораторные изменения функционирования сердечно-сосудистой системы у детей, рожденных матерями с СД, а также проследить имеющиеся в литературе данные о связи между диабетом матери, диагностированным до или во время беременности, и отдаленными рисками возникновения сердечно-сосудистых заболеваний у их детей.

Ключевые слова: сахарный диабет, новорожденные, сердечно-сосудистая система, эхокардиография, гипертрофия миокарда

Для цитирования: Прилуцкая, В. А. Адаптация сердечно-сосудистой системы младенцев, рожденных матерями с сахарным диабетом / В. А. Прилуцкая, А. В. Сукало, Т. А. Деркач // Вес. Нац. акад. навук Беларусі. Сер. мед. навук. – 2021. – Т. 18, № 1. – С. 94–108. https://doi.org/10.29235/1814-6023-2021-18-1-94-108

Veranika A. Prylutskaya, Alexander V. Sukalo, Tatsiana A. Derkach

Belarusian State Medical University, Minsk, Republic of Belarus

ADAPTATION OF THE CARDIOVASCULAR SYSTEM OF INFANTS BORN BY MOTHERS WITH DIABETES MELLITUS

Abstract. It is known, that diabetes mellitus has a significant impact on the growth and development of the fetus. Hyperglycemia during pregnancy increases significantly the incidence of congenital malformations, perinatal morbidity and neonatal mortality. Over the past decades has been a steady increase in the prevalence of diabetes mellitus both in the general population and among pregnant women. In this regard, the study of the influence of diabetes mellitus in the mother on the condition of the fetus and newborn is today a relevant problem of obstetric-gynecological, neonatological and pediatric services. Hyperglycemia during pregnancy has the greatest effect on the fetal cardiovascular system. Diabetes mellitus of the mother causes an increase in the frequency of congenital heart defects in the newborn, myocardial hypertrophy, as well as various functional disorders of the cardiovascular system.

This review mainly discusses the pathogenetic aspects and molecular mechanisms of the effect of hyperglycemia on the development of the fetal heart, provides an assessment of clinical, echocardiographic and some laboratory changes in the functioning of the cardiovascular system in newborns from mothers with diabetes mellitus, and also systematizes data on the relationship between maternal diabetes and the risks of cardiovascular disease in their children in the long term.

Keywords: diabetes mellitus, newborns, cardiovascular system, echocardiography, myocardial hypertrophy

For citation: Prylutskaya V. A., Sukalo A. V., Derkach T. A. Adaptation of the cardiovascular system of infants born by mothers with diabetes mellitus. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seriya meditsinskikh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2021, vol. 18, no. 1, pp. 94–108 (in Russian). https://doi.org/10.29235/1814-6023-2021-18-1-94-108

© Прилуцкая В. А., Сукало А. В., Деркач Т. А., 2021

Актуальность. Распространенность материнских гипергликемических расстройств в период беременности и их влияние на состояние плода и новорожденного остаются на сегодняшний день актуальной проблемой акушерско-гинекологической, неонатальной и педиатрической служб. Согласно этиологической классификации, составленной Американской диабетической ассоциацией (ADA) в январе 2013 г. [1], выделяют четыре группы сахарного диабета (СД): диабет первого типа; диабет второго типа; диабет, возникающий в результате определенных механизмов и заболеваний; гестационный диабет. Наибольшее значение в период беременности имеют гестационный сахарный диабет (ГСД), а также сахарный диабет первого (СД1) и второго (СД2) типа.

По данным литературы, СД осложняет от 2 до 3 % всех беременностей [2]. Несмотря на достаточно низкий уровень СД и на значительные успехи в тактике ведения таких беременностей и компенсации СД, данная патология несет существенные пре- и перинатальные, а также долгосрочные риски для матери и ребенка, а показатели перинатальной заболеваемости и смертности новорожденных в этой группе остаются высокими и превышают соответствующий показатель в общей популяции почти в 4 раза [3].

Исследования последних десятилетий показывают значительный рост распространенности СД как в целом в популяции (рис. 1) [4], так и среди беременных женщин. Так, в ходе популяционного когортного исследования, проведенного в Канаде (1996–2010 гг., 1 109 605 женщин), выявлено, что распространенность диабета у беременных за 14 лет увеличилась более чем в 2 раза. По данным на 1996 г., выявлено 2,7 % женщин с гестационным диабетом и 0,7 % – с прегестационным. В 2010 г. распространенность СД составила 5,6 % для гестационного и 2,7 % для прегестационного диабета [5]. Согласно результатам других исследований, частота встречаемости СД увеличивается [6, 7]. Приблизительно 90 % случаев диабета во время беременности обусловлены ГСД. Существовавшие ранее СД1 и СД2 типа составляют оставшиеся 10 % случаев диабета в период беременности [2]. Несмотря на рост распространенности СД в период беременности среди всего населения планеты, его частота в различных странах существенно колеблется.

Впервые глобальная оценка распространенности гипергликемии у беременных в разных странах в соответствии с новыми рекомендациям ВОЗ проведена L. Guariguata с соавт. [8] (табл. 1). Наибольшая распространенность женщин с гипергликемией в период беременности отмечается в странах с низким и средним уровнем экономического развития. Среди возможных причин увеличения частоты СД среди беременных исследователи отмечают рост ожирения, снижение физической активности, повышенное содержание насыщенных жиров в рационе, а также увеличение среднего возраста беременных женщин [2, 9]. Показатели ГСД в популяции обычно коррелируют с частотой СД2 типа, которая на протяжении последних лет непрерывно возрастает [10].

В период беременности СД связан с повышенным риском развития осложнений как со стороны матери, так и со стороны ребенка [11, 12]. Со стороны женщины возрастает риск гипергликемических состояний, выше частота гестационной гипертензии и преэклампсии, а также кесарева

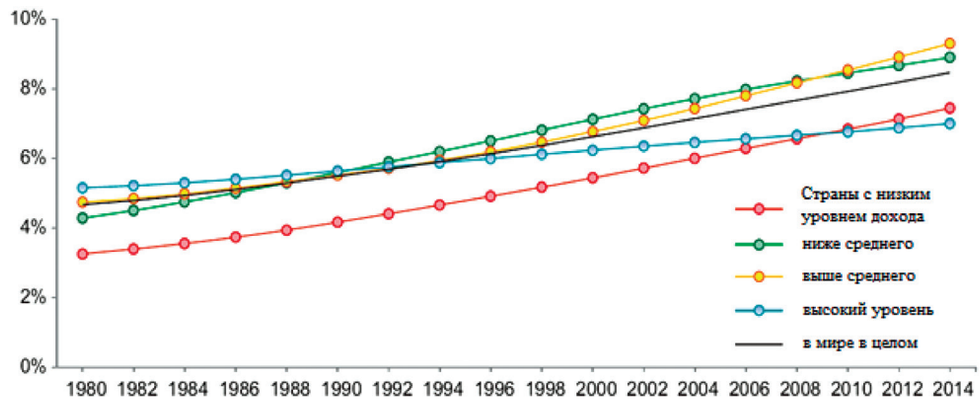


Рис. 1. Тенденции распространенности диабета на протяжении с 1980 по 2014 г. в зависимости от уровня экономического развития стран мира (согласно Глобальному отчету ВОЗ по диабету, 2016)

Fig. 1. Trends in prevalence of diabetes, 1980–2014, by country income group (according to Global report on diabetes WHO, 2016)

Таблица 3. **Сведения о пороках сердца плода при сахарном диабете у матери (по N. Corrigan с соавт. (2008), с изменениями и дополнениями)**

Table 3. **Information about fetal heart defects in maternal diabetes mellitus (according to N. Corrigan et al. (2008), with changes and additions)**

Публикация, год (страна)	Всего пациентов в исследовании	К-во детей, рожденных от матерей с СД	Пороки развития в группе детей от матерей с СД	Основные результаты исследования
Ullmo с соавт., 2006 (Швейцария)	87 женщин с СД	92	3/16 новорожденных от женщин с СД1 имели ВПС, 50 % – гипертрофию отделов сердца; 1/17 детей от женщин с СД2 имели ВПС, 25 % – гипертрофию	Наличие СД1 и СД2 несет повышенный риск развития гипертрофии сердца у плода по сравнению с ГСД
Gardiner с соавт., 2006 (Великобритания)	200 плодов	41	Снижение сократимости и увеличение толщины миокарда у диабетических плодов	Адаптивная гипертрофия сердца у детей от матерей с СД
Abu-Sulaiman, Subaih, 2004 (Саудовская Аравия)	100 новорожденных младенцев матерей с СД1	100	ОАП – 70 %, ООО – 68, гипертрофическая кардиомиопатия – 38, другие пороки – 15 %	Большое количество аномалий объясняется высоким уровнем кровного родства в регионе
Wren с соавт., 2003 (Великобритания)	192 618 живорожденных	609	3,6 % среди новорожденных от диабетических беременностей; 0,74 % – от беременностей без диабета	Пятикратное увеличение риска ВПР. Транспозиция магистральных сосудов, общий артериальный ствол и атрезия трехстворчатого клапана – распространенные аномалии
Aberg с соавт., 2001 (Швеция)	1,2 млн новорожденных	3864 с преГСД; 8688 – с ГСД	Частота пороков развития в группе преГСД – 9,5 %; в группе младенцев от женщин с ГСД – 5,7 %	Сердечно-сосудистые дефекты, пороки развития ротовой полости, позвоночника и конечностей зарегистрированы чаще у детей от матерей с преГСД; младенцы с МВПР были только в группе женщин с преГСД; в группе детей от матерей с ГСД есть подгруппа с повышенным риском, возможно, из-за наличия невыявленного ранее СД2
Loffredo с соавт., 2001 (США)	7962 младенца	4390 младенцев с сердечно-сосудистыми аномалиями; 3572 – группа контроля	Трехкратное увеличение частоты пороков сердечно-сосудистой системы у детей от женщин с преГСД	Материнский диабет в значительной степени связан с сердечно-сосудистыми мальформациями у их детей (ОШ = 4,7) и с кардиомиопатией (ОШ = 15,1), но не с обструктивными и шунтирующими дефектами
Yang с соавт., 2006 (Канада)	151 003 младенца	516	4,8 % пороков сердца при преГСД	Сердечные аномалии (декстрокардия – 0,4 %, ОАП – 0,8, ДМЖП – 1,9 %) выявлены у 4,8 % детей от матерей с преСД; частота у детей от недиабетических матерей – 0,8 %
Sheffield с соавт., 2002 (США)	145 196 женщин	410 (0,3 %) от матерей с преГСД; 2277 (1,6 %) – с ГСД	Врожденные пороки развития у младенцев при ГСД встречались в 4,8 % случаев, при преГСД – в 6,1 % случаев	Частота пороков развития у новорожденных от недиабетических матерей составила 1,5 %, в группе новорожденных от матерей с преСД – 6,1 %; отмечены сердечные аномалии: ДМЖП и гипоплазия левых отделов сердца

Примечание. ВПС – врожденный порок сердца, преГСД – прегестационный сахарный диабет, ОАП – открытый артериальный проток, ООО – открытое овальное окно, ДМЖП – дефект межжелудочковой перегородки.

Таблица 4. **Частота гипертрофии сердца у младенцев матерей с диабетом (по NinaD. Paauw с соавт. (2019))**

Table 4. **Incidences of cardiac hypertrophy in infants of diabetic mothers (according to Nina D. Paauw et al. (2019))**

Исследование	Тип диабета	Характеристика исследования	Время первой ЭХО-КГ	К-во пациентов	Гипертрофия сердца, %
Gutgesell (1980)	СД1, СД2, ГСД	Новорожденные с клиническими проявлениями и бессимптомные	≤1 неделя жизни	47	32
Sheehan (1986)	Не сообщалось	Хорошо контролируемый диабет	Не сообщалось	20	35
Deorari (1989)	СД1,2 (16 %), ГСД (84 %)	Дородовая клиника высокого риска	≤5 дней после рождения	31	26
Vural (1995)	Не сообщалось	Отделение интенсивной терапии новорожденных или неонатальное отделение	Не сообщалось	56	30
Oberhoffer (1997)	СД1 (59 %), ГСД (41 %)	Строго контролируемая диабетическая беременность	≤5 дней после рождения	104	25
Abu-Sulaiman (2004)	Инсулинозависимый СД	Центр третьего уровня оказания медицинской помощи	≤48 ч после рождения	100	38
Tan (2005)	СД1, СД2 (20 %), ГСД (50 %), нарушение толерантности к глюкозе (30 %)	Женская консультация	≤48 ч после рождения	50	13
Ullmo (2006)	СД1 (18 %), СД2 (20 %), ГСД (62 %)	Отделение перинатальной помощи	Пренатально в сочетании с постнатальным	92	13
El-Ganzouriy (2012)	СД1 (35 %), СД2 (17 %), ГСД (48 %)	Отделение интенсивной терапии новорожденных	≤48 ч после рождения	69	44

у матери, времени исследования и, что немаловажно, опыта специалиста, проводившего эхокардиографическое исследование (ЭХО-КГ) (табл. 4) [30].

Несколько исследований продемонстрировали связь между формированием гипертрофии сердца у детей и типом материнского диабета. S. Ullmo с соавт. [31] установили, что у новорожденных детей от женщин с СД1 типа самый высокий риск развития гипертрофии миокарда, за ним следует СД2 типа и лишь незначительный процент составляют младенцы от матерей с ГСД. Кроме того, во многих исследованиях показана взаимосвязь между контролем гликемии в период беременности и частотой гипертрофии миокарда. Так, матери детей, у которых была выявлена гипертрофия сердца, имели более высокие уровни гликированного гемоглобина, чем матери детей без гипертрофии. Тем не менее вопрос об эффективности строгого гликемического контроля для предотвращения гипертрофии миокарда остается спорным. Одни исследования показывают снижение частоты осложнений за счет строгого контроля материнской гликемии [32], другие – развитие асимметричной гипертрофии различных отделов сердца даже при хорошем гликемическом контроле [32]. Это связывают с тем, что гликированный гемоглобин не всегда точно отражает степень компенсации СД, т. е. даже при наличии эпизодов гипо- и гипергликемии данный показатель может оставаться в пределах нормы. Тем не менее эпизоды гипергликемии могут запускать каскад патогенетических реакций и способствовать развитию патологических изменений в сердечно-сосудистой системе плода. В связи с этим, по мнению некоторых ученых, необходим более строгий контроль гликемии в период беременности [30].

В большинстве случаев изменения со стороны сердечно-сосудистой системы у детей без пороков сердца не требуют специфической терапии, необходимы только тщательное динамическое наблюдение, контроль гликемического и волемического статусов. Лишь некоторым пациентам с нарушением диастолической функции и развившейся сердечной недостаточностью может потребоваться поддерживающая терапия. Гипертрофические изменения у младенцев от матерей с диабетом после рождения подвергаются обратному развитию, поскольку стимул для выработки инсулина исчезает и в большинстве случаев патологические изменения на ЭХО-КГ через 6 мес. после

рождения уже не обнаруживаются [32]. Но, несмотря на относительно благоприятное течение патологических изменений в сердце, имеются сообщения о случаях гибели плодов из-за гипертрофической кардиомиопатии. N. Russell с соавт. [33] сообщают, что у мертворожденных детей от матерей с диабетом сердце тяжелее (с учетом поправки на массу тела плода), чем у мертворожденных от женщин, не страдающих диабетом. Это позволяет предположить, что кардиомиопатия может играть роль в «необъяснимой» антенатальной гибели плода при диабетической беременности.

ЭХО-КГ-исследование является одним из основных методов диагностики поражения сердца у новорожденного. Из наиболее часто встречающихся изменений следует отметить увеличение толщины межжелудочковой перегородки при беременности на фоне СД по сравнению с данным показателем у здоровых новорожденных. Описаны также утолщения задней и боковой стенок левого желудочка (ЛЖ). В большинстве случаев степень гипертрофии не превышала двух сигмальных отклонений и не вызывала обструкции выходного тракта ЛЖ и нарушения контрактильности миокарда. Установлено также увеличение массы ЛЖ и соотношения массы ЛЖ/площадь поверхности тела в группе СД. Анализ сократительной функции ЛЖ не выявил значимых различий в группах пациентов от женщин с диабетом и без него [34, 35].

На сегодняшний день помимо стандартной ЭХО-КГ для оценки сердечной функции активно применяется импульсно-волновая и тканевая допплеровская визуализация. С помощью данных методов можно оценить степень систолической и диастолической дисфункции миокарда даже в отсутствие структурных нарушений. Среди параметров импульсно-волнового допплеровского сканирования чаще всего проводят оценку пиковой скорости волны *E*, пиковой скорости волны *A* и соотношения *E*/*A* для диастолического потока через митральный и трикуспидальный клапаны. Среди параметров тканевого допплера проводят измерения скорости *E′*, *A′*, соотношения *E′*/*A′* в области фиброзных колец митрального и трикуспидального клапанов [36]. Эти методы используются сочетанно для наиболее точной оценки функциональных нарушений. Между тем тканевый допплер позволяет выявить большее количество новорожденных с диастолической дисфункцией ЛЖ, чем традиционный импульсно-волновой допплер. Кроме того, тканевый допплер менее подвержен влиянию частоты сердечных сокращений, что повышает точность измерений.

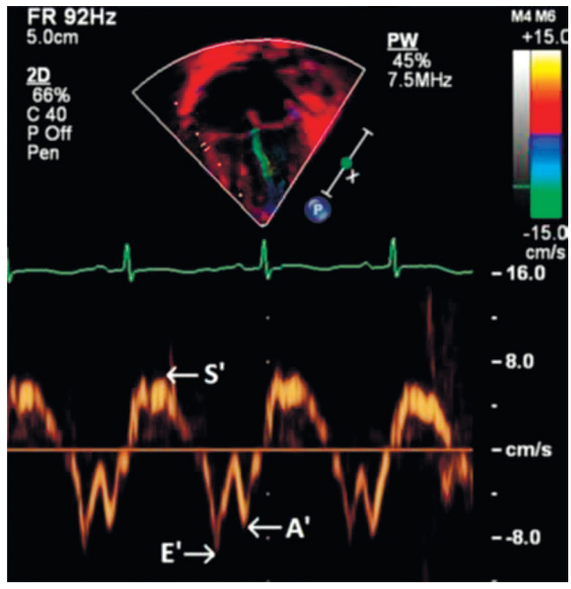


Рис. 2. Импульсно-волновая форма волны тканевого допплеровского изображения латерального отдела фиброзного кольца трикуспидального клапана (*S′* – систолическая скорость; *E′* – ранняя диастолическая скорость; *A′* – поздняя диастолическая скорость) (по Jenny E. Zablah с соавт. (2017))

Fig. 2. Pulsed wave tissue Doppler imaging waveform at the lateral tricuspid valve annulus (*S′* – systolic velocity; *E′* – early diastolic velocity; *A′* – late diastolic velocity) (according to Jenny E. Zablah et al. (2017))

На рис. 2 представлен режим тканевой допплеровской визуализации [37]. Систолическая волна (*S′*) соответствует выбросу желудочков, волна *E′* отражает расслабление желудочков, а волна *A′* – сокращение предсердий и позднее наполнение желудочков. Зубец *E′* является самым ранним маркером диастолической дисфункции и снижается с уменьшением степени продольного удлинения (сокращения) при различных патологических состояниях.

В большинстве описанных в литературе исследований значимых нарушений при оценке систолической функции сердца не выявлено. Однако некоторые исследователи обнаружили снижение систолической функции, особенно в группе детей с прегестационным диабетом [38]. Нарушение диастолической функции ЛЖ описано во многих исследованиях у детей от матерей с СД. С точки зрения прогностической ценности обнаружение диастолической дисфункции более важно для оценки клинической ситуации, чем просто обнаружение гипертрофии перегородки.

J. E. Zablah с соавт. с помощью тканевого допплера провели сравнительную оценку функцио-

нального состояния миокарда у новорожденных, матери которых болеют СД, и у здоровых новорожденных. В ходе исследования обнаружены значительно более низкие скорости *S′* ($p \leq 0{,}03$) и *E′* ($p < 0{,}001$) и более высокие соотношения *E*/*E′* ($p < 0{,}001$) в медиальных и латеральных отделах фиброзных колец трикуспидального и митрального клапанов. Данные изменения отражают снижение систолической и диастолической функций миокарда по сравнению с таковыми у младенцев от матерей, не страдавших СД.

В другом исследовании A. Sobeih с соавт. проведена оценка пиковой скорости волны *E*, пиковой скорости волны *A* и соотношения *E*/*A* для диастолического потока через митральный и трикуспидальный клапаны у детей, рожденных женщинами с СД, и у здоровых младенцев контрольной группы в возрасте 1 недели жизни. Были обнаружены статистически значимые более низкие значения, чем в контрольной группе, таких показателей, как скорость волны *E* на митральном клапане ($p < 0{,}001$), соотношение *E*/*A* митрального клапана ($p < 0{,}001$), скорость волны *E* трикуспидального клапана ($p = 0{,}001$) и соотношение *E*/*A* трикуспидального клапана ($p = 0{,}001$), в то время как не было существенных различий между значениями скорости *A* в области митрального и трикуспидального клапанов. Данные результаты свидетельствует о нарушениях диастолического наполнения желудочков сердца [36].

A. Kozák-Bárány с соавт. [39] обнаружили, что у доношенных новорожденных из группы женщин с СД увеличилось время замедления раннего диастолического наполнения. Данный показатель был значительно снижен даже при надлежащем контроле диабета у матерей.

Результаты данных исследований подтверждают тот факт, что даже при отсутствии структурных нарушений в сердечной мышце эта группа детей может иметь различные нарушения кровотока. Требует дальнейших многоцентровых когортных исследований изучение параметров тканевой допплеровской визуализации у младенцев от женщин с СД, так как имеющиеся в литературе исследования, как правило, представляют собой ретроспективный анализ, характеризующийся небольшим объемом выборки, а зачастую и отсутствием динамического наблюдения за детьми.

В последнее время в литературе описаны результаты исследований сердечного тропонина в качестве маркера повреждения сердечной мышцы в дополнение к ЭХО-КГ. Тропонин представляет собой ингибирующий белковый комплекс, обнаруживаемый во всех поперечнополосатых мышцах, а кардиоспецифическая изоформа тропонина 1 является чувствительным и специфическим маркером ишемии миокарда. В исследовании A. Korraa с соавт. [40] у младенцев матерей с диабетом повышена концентрация тропонина 1 в плазме на второй день жизни. Авторами выявлена значимая положительная корреляция между уровнем тропонина I на второй день жизни и конечным диастолическим диаметром ЛЖ, а также диаметром межжелудочковой перегородки при ЭХО-КГ. Сердечный тропонин I является полезным биохимическим маркером для мониторинга повреждения миокарда у младенцев от матерей с диабетом. Авторы предлагают его шире использовать у данной категории новорожденных.

Еще одним возможным маркером повреждения сердца при диабетической беременности является натрийуретический пептид B-типа (*англ.* B-type Natriuretic Peptide (BNP)). Он представляет собой пептид из 32 аминокислот, высвобождаемый в избытке сердечными миоцитами во время стресса. BNP, высвобождаемый в виде пропептида из 108 аминокислот (proBNP), затем расщепляется на активный BNP (32 аминокислоты) и N-концевой фрагмент. Биологические функции BNP включают регуляцию объема внеклеточной жидкости и артериального давления путем увеличения натрийуреза и ингибирования ренин-ангиотензин-альдостероновой системы [41]. У плода BNP функционирует как вазодилататор плацентарного кровообращения. BNP, вероятно, также обеспечивает важные защитные аутокринные эффекты в сердце, подавляя фиброз и гипертрофию. В исследовании, проведенном N. E. Russell с соавт. [42], было обнаружено, что концентрация proBNP была значительно выше в пуповинной крови детей от женщин с СД1 и субоптимальным гликемическим контролем, чем в пуповинной крови детей, рожденных женщинами без СД контрольной группы. Вероятно, повышение уровня proBNP носит компенсаторный характер, направленный на предотвращение развития гипертрофических изменений в сердце. Требуются дальнейшие исследования о возможности использования BNP и proBNP в крови в качестве маркеров неонатальной кардиомиопатии у младенцев от матерей с диабетом.

Оценка отдаленного риска сердечно-сосудистых заболеваний у детей, рожденных матерями с сахарным диабетом. На сегодняшний день в литературе описано небольшое количество исследований, отражающих отдаленные эффекты внутриутробной гипергликемии. Среди них наиболее крупным является проспективное популяционное когортное исследование, проводившееся на протяжении 40 лет в Дании (1977–2016 гг.). В исследование были включены 2 432 000 живорожденных детей без врожденных пороков сердца. За период наблюдения было выявлено, что у потомков матерей с диабетом общая частота ранних сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ) составила 29 % (отношение рисков (ОР) = 1,29 (95 % доверительный интервал (ДИ) – 1,21–1,37), а среди детей, не подверженных материнскому диабету в возрасте до 40 лет, – 13,07 %. Как прегестационный диабет (ОР = 1,34 (95 % ДИ – 1,25–1,43)), так и гестационный диабет (ОР = 1,19 (95 % ДИ – 1,07–1,32)) были связаны с увеличением частоты ССЗ заболеваний у потомства. Наблюдались повышенные показатели следующих ССЗ: сердечная недостаточность (ОР = 1,45 (95 % ДИ – 0,89–2,35)), гипертоническая болезнь (ОР = 1,78 (95 % ДИ – 1,50–2,11)), тромбоз глубоких вен (ОР = 1,82 (95 % ДИ – 1,38–2,41)) и тромбоэмболия легочной артерии (ОР = 1,91 (95 % ДИ – 1,31–2,80)). Повышенная частота ССЗ наблюдалась в разных возрастных группах [43].

Поздний риск ССЗ у детей, рожденных от матерей, беременность которых протекала на фоне СД, может быть связан с прямым воздействием внутриутробной метаболической среды на развивающуюся сосудистую сеть. Вызванные гипергликемией окислительный стресс и воспаление, вероятно, являются виновниками сосудистого повреждения у плода женщины с СД и могут привести к стойкой дисрегуляции паттернов экспрессии сосудистых генов через эпигенетические механизмы (рис. 3) [44].

Этот факт подтвержден рядом исследований, в которых показана роль окислительного стресса и опосредованной метилированием регуляции транскрипции в фенотипическом программировании сосудистых клеток, полученных из крови пуповины. Эти данные подчеркивают опосредованные глюкозой изменения метилирования как потенциальные механизмы развития эндотелиальной дисфункции у потомства животных, подвергшихся пренатальной гипергликемии. Результаты исследований на животных [45] также указывают на аномалии сосудистой реактивности и повышенный риск гипертонии и сердечно-сосудистой дисфункции у потомков диабетических крыс. Таким образом, внутриутробное воздействие гипергликемии может запрограммировать провоспалительный сосудистый фенотип, который предрасполагает к сосудистой дисфункции и повышению частоты ССЗ [44].

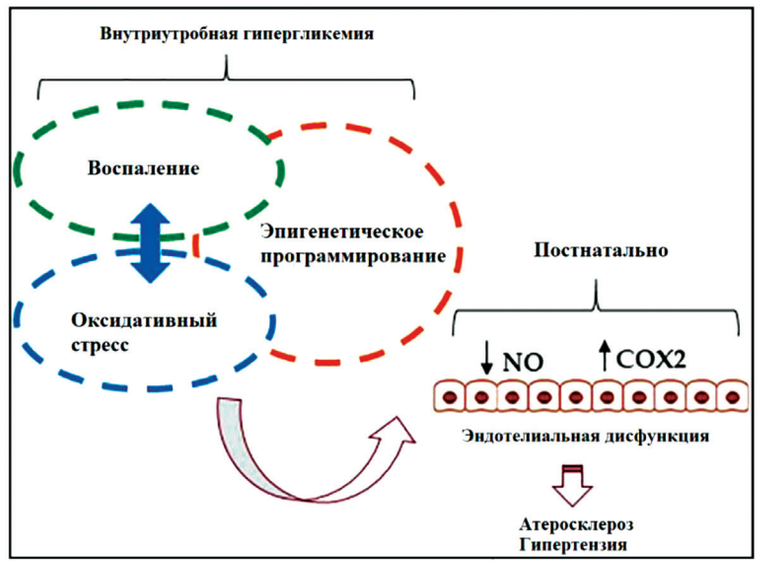


Рис. 3. Механизмы, связывающие гестационный сахарный диабет с сосудистой дисфункцией у потомства (по Nada A. Sallam с соавт. (2018))

Fig. 3. Mechanisms linking gestational diabetes mellitus to vascular dysfunction in the offspring (according to Nada A. Sallam et al. (2018))

Заключение. В заключение следует подчеркнуть, что частота СД среди беременных на протяжении последних десятилетий постоянно растет. Исследователи сходятся во мнении, что в ближайшие годы эта тенденция сохранится, прежде всего из-за увеличения распространенности ожирения в мире. Учитывая, что гипергликемия в период беременности подвергает плод высокому риску формирования врожденных пороков развития (в первую очередь сердечно-сосудистой системы), а также вызывает различные структурные и функциональные сердечные аномалии, усилия акушеров и неонатологов должны быть сосредоточены, с одной стороны, на строгом гликемическом контроле в период беременности, с другой – на раннем выявлении не только структурных, но и функциональных изменений сердечно-сосудистой системы. В этой связи представляется целесообразным проведение обязательного ЭХО-КГ-исследования с допплеровской оценкой кровотока всем новорожденным от матерей с СД, а также разработка стандартов динамического наблюдения этой группы детей, так как появляется все больше исследований, свидетельствующих об отдаленных рисках ССЗ у данной категории младенцев.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список использованных источников

1. American Diabetes Association, Diagnosis and classification of diabetes mellitus // Diabetes Care. – 2014. – Vol. 37, suppl. 1. – P. 81–90. https://doi.org/10.2337/dc14-S081

2. Jones, L. V. Techniques of monitoring blood glucose during pregnancy for women with pre-existing diabetes [Electronic resource] // Cochrane Database of Systematic Reviews 2019. – Mode of access: https://doi.org/10.1002/14651858.CD009613.pub4/. – Date of access: 18.10.2020.

3. Macintosh, M. Perinatal mortality and congenital anomalies in babies of women with type 1 or type 2 diabetes in England, Wales, and Northern Ireland: population based study / M. C. M. Macintosh [et al.] // BMJ. – 2006. – Vol. 333, N 7560. – Art. 177. https://doi.org/10.1136/bmj.38856.692986.AE

4. Roglic, G. WHO Global report on diabetes: a summary [Electronic resource] // World Health Organization. – Mode of access: https://www.ijncd.org/text.asp?2016/1/1/3/184853/. – Date of access: 18.10.2020.

5. Trends in incidence of diabetes in pregnancy and serious perinatal outcomes: a large, population-based study in Ontario, Canada, 1996–2010 / D. S. Feig [et al.] // Diabetes Care. – 2014. – Vol. 37, N 6. – P. 1590–1596. https://doi.org/10.2337/dc13-2717

6. Ferrara, A. Increasing prevalence of gestational diabetes mellitus: a public health perspective / A. Ferrara // Diabetes Care. – 2007. – Vol. 30, suppl. 2. – P. S141–S146. https://doi.org/10.2337/dc07-s206

7. Diabetes trends among delivery hospitalizations in the U. S., 1994–2004 / S. S. Albrecht [et al.] // Diabetes Care. – 2010. – Vol. 33, N 4. – P. 768–773. https://doi.org/10.2337/dc09-1801

8. Global estimates of the prevalence of hyperglycaemia in pregnancy / L. Guariguata [et al.] // Diabetes Res. Clin. Practice. – 2014. – Vol. 103, N 2. – P. 176–185. https://doi.org/10.1016/j.diabres.2013.11.003

9. Improvement in pregnancy-related outcomes in the offspring of diabetic mothers in Bavaria, Germany, during 1987–2007 / A. Beyerlein [et al.] // Diabet Med. – 2010. – Vol. 27, N 12. – P. 1379–1384. https://doi.org/10.1111/j.1464-5491.2010.03109.x

10. Lipscombe, L. L. Trends in diabetes prevalence, incidence, and mortality in Ontario, Canada 1995–2005: a population-based study / L. L. Lipscombe, J. E. Hux // Lancet. – 2007. – Vol. 369, N 9563. – P. 750–756. https://doi.org/10.1016/S0140-6736(07)60361-4

11. Maternal and fetal outcome in women with type 2 versus type 1 diabetes mellitus: a systematic review and metaanalysis / M. Balsells [et al.] // J. Clin. Endocrinol. Metab. – 2009. – Vol. 94, N 11. – P. 4284–4291. https://doi.org/10.1210/jc.2009-1231

12. Outcomes of pregnancies in women with pre-gestational diabetes mellitus and gestational diabetes mellitus; a population-based study in New South Wales, Australia, 1998–2002 / A. W. Shand [et al.] // Diabet Med. – 2008. – Vol. 25, N 6. – P. 708–715. https://doi.org/10.1111/j.1464-5491.2008.02431.x

13. Wren, C. Cardiovascular malformations in infants of diabetic mothers / C. Wren // Heart. – 2003. – Vol. 89, N 10. – P. 1217–1220. https://doi.org/10.1136/heart.89.10.1217

14. Ray, J. G. Preconception care and the risk of congenital anomalies in the offspring of women with diabetes mellitus: a meta-analysis / J. G. Ray, T. E. O'Brien, W. S. Chan // QJM. – 2001. – Vol. 94, N 8. – P. 435–444. https://doi.org/10.1093/qjmed/94.8.435

15. Socioeconomic correlation of the increasing trend in prevalence of gestational diabetes in large population of women between 1995–2005 / A. Vibeke [et al.] // Diabetes Care. – 2008. – Vol. 31, N 12. – P. 2288–2293. https://doi.org/10.2337/dc08-1038

16. Speckle tracking and myocardial tissue imaging in infant of diabetic mother with gestational and pregestational diabetes / M. Al-Biltagi [et al.] // Pediatr. Cardiol. – 2015. – Vol. 36, N 2. – P. 445–453. https://doi.org/10.1007/s00246-014-1033-0

17. Pauliks, L. B. The effect of pregestational diabetes on fetal heart function / L. B. Pauliks // Diabetes Care. – 2015. – Vol. 13, N 1. – P. 67–74. https://doi.org/10.1586/14779072.2015.988141

18. Gibb, A. A. Metabolic coordination of physiological and pathological cardiac remodeling / A. A. Gibb, B. G. Hill // Circ. Res. – 2018. – Vol. 123, N 1. – P. 107–128. https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.118.312017

19. Maillet, M. Molecular basis of physiological heart growth: fundamental concepts and new players / M. Maillet, J. H. van Berlo, J. D. Molkentin // Nat. Rev. Mol. Cell Biol. – 2013. – Vol. 14, N 1. – P. 38–48. https://doi.org/10.1038/nrm3495

20. Young, M. E. Adaptation and maladaptation of the heart in diabetes: part II: potential mechanisms / M. E. Young, P. McNulty, H. Taegtmeyer // Circulation. – 2002. – Vol. 105, N 15. – P. 1861–1870. https://doi.org/10.1161/01.cir.0000012467.61045.87

21. Eriksson, U. J. Diabetes and embryonic malformations. Role of substrate-induced free-oxygen radical production for dysmorphogenesis in cultured rat embryos / U. J. Eriksson, L. A. H. Borg // Diabetes. – 1993. – Vol. 42, N 3. – P. 411–419. https://doi.org/10.2337/diab.42.3.411

22. Kumar, S. D. Maternal diabetes induces congenital heart defects in mice by altering the expression of genes involved in cardiovascular development / S. D. Kumar, S. T. Dheen, S. S. Tay // Cardiovasc. Diabetol. – 2007. – Vol. 6. – Art. 34. https://doi.org/10.1186/1475-2840-6-34

23. Corrigan, N. Fetal Cardiac Effects of Maternal Hyperglycemia During Pregnancy / N. Corrigan, D. P. Brazil, F. McAuliffe // Birth Defects Res. Pt. A: Clin. Mol. Terat. – 2009. – Vol. 85, N 6. – P. 523–530. https://doi.org/10.1002/bdra.20567

24. Farrar, D. Hyperglycemia in pregnancy: prevalence, impact, and management challenges / D. Farrar // Int. J. Women's Health. – 2016. – Vol. 8. – P. 519–527. https://doi.org/10.2147/IJWH.S102117

25. Fetal myocardial deformation in maternal diabetes mellitus and obesity / A. Kulkarni [et al.] // Ultrasound Obstet. Gynecol. – 2017. – Vol. 49, N 5. – P. 630–636. https://doi.org/10.1002/uog.15971

26. Schulze, C. Lipid use and misuse by the heart / C. Schulze, K. Drosatos, I. J. Goldberg // Circ. Res. – 2016. – Vol. 118, N 11. – P. 1736–1751. https://doi.org/10.1161/circresaha.116.306842

27. Markers of maternal and infant metabolism are associated with ventricular dysfunction in infants of obese women with type 2 diabetes / W. T. Cade [et al.] // Pediatr. Res. – 2017. – Vol. 82, N 5. – P. 768–775. https://doi.org/10.1038/pr.2017.140

28. Jensen, M. D. Insulin dose response analysis of free fatty acid kinetics / M. D. Jensen, S. Nielsen // Metabolism. – 2007. – Vol. 56, N 1. – P. 68–76. https://doi.org/10.1016/j.metabol.2006.08.022

29. Higgins, M. A Review of maternal and fetal growth factors in diabetic pregnancy / M. Higgins, F. Mc. Auliffe // Curr. Diab. Rev. – 2010. – Vol. 6, N 2. – P. 116–125. https://doi.org/10.2174/157339910790909431

30. Neonatal cardiac hypertrophy: the role of hyperinsulinism – a review of literature / N. D. Paauw [et al.] // Eur. J. Pediatr. – 2020. – Vol. 179, N 1. – P. 39–50. https://doi.org/10.1007/s00431-019-03521-6

31. Pathologic ventricular hypertrophy in the offspring of diabetic mothers: a retrospective study / S. Ullmo [et al.] // Eur. Heart J. – 2007. – Vol. 28, N 11. – P. 1319–1325. https://doi.org/10.1093/ eurheartj/ehl416

32. Cardiac and extracardiac complications in infants of diabetic mothers and their relation to parameters of carbohydrate metabolism / R. Oberhoffer [et al.] // Eur. J. Pediatr. – 1997. – Vol. 156, N 4. – P. 262–265. https://doi.org/10.1007/s004310050596

33. Cardiomyopathy and cardiomegaly in stillborn infants of diabetic mothers / N. E. Russell [et al.] // Pediatr. Development. Pathol. – 2008. – Vol. 11, N 1. – P. 10–14. https://doi.org/10.2350/07-05-0277.1

34. Ивашкевич, А. Б. Характеристика состояния сердечно-сосудистой системы у новорожденных от матерей с сахарным диабетом : автореф. дис. ... канд. мед. наук : 14.01.08 / А. Б. Ивашкевич ; Респ. науч.-практ. центр «Мать и дитя». – Минск, 2012. – 20 с.

35. Лысенко, С. Н. Особенности формирования диабетической фетопатии: диагностика и оптимизация акушерской тактики : автореф. дис. … д-ра мед. наук : 14.01.01 / С. Н. Лысенко ; Моск. обл. науч.-исслед. ин-т акушерства и гинекологии. – М., 2019. – 48 с.

36. Sobeih, A. A. Assessment of cardiac diastolic function in infants of diabetic mothers using tissue Doppler echocardiography / A. A. Sobeih, M. A. Sakr, R. K. Abolmaaty // Egypt Pediatric Association Gaz. – 2020. – Vol. 68. – Art. 10. https://doi.org/10.1186/s43054-020-00021-3

37. Subclinical decrease in myocardial function in asymptomatic infants of diabetic mothers: a tissue doppler study / J. E. Zablah [et al.] // Pediatr. Cardiol. – 2017. – Vol. 38, N 4. – P. 801–806. https://doi.org/10.1007/s00246-017-1584-y

38. Speckle tracking and myocardial tissue imaging in infant of diabetic mother with gestational and pregestational diabetes / M. Al-Biltagi [et al.] // Pediatr. Cardiol. – 2015. – Vol. 36, N 2. – P. 445–453. https://doi.org/10.1007/s00246-014-1033-0

39. Impaired left ventricular diastolic function in newborn infants of mothers with pregestational or gestational diabetes with good glycemic control / A. Kozák-Bárány [et al.] // Early Human Development. – 2004. – Vol. 77, N 1–2. – P. 13–22. https://doi.org/10.1016/j.earlhumdev.2003.11.006

40. Cardiac troponin I levels and its relation to echocardiographic findings in infants of diabetic mothers / A. Korraa [et al.] // Ital. J. Pediatr. – 2012. – Vol. 38. – Art. 39. https://doi.org/10.1186/1824-7288-38-39

41. De Lemos, J. A. B-type natriuretic peptide in cardiovascular disease / J. A. de Lemos, D. K. McGuire, M. H. Drazner // Lancet. – 2003. – Vol. 362, N 9380. – P. 316–322. https://doi.org/10.1016/S0140-6736(03)13976-1

42. Troponin T and pro-B-type natriuretic peptide in fetuses of type 1 diabetic mothers / N. E. Russell [et al.] // Diabetes Care. – 2009. – Vol. 32, N 11. – P. 2050–2055. https://doi.org/10.2337/dc09-0552

43. Maternal diabetes during pregnancy and early onset of cardiovascular disease in offspring: population based cohort study with 40 years of follow-up / Yu. Yongfu [et al.] // BMJ. – 2019. – Vol. 367. – Art. I6398. https://doi.org/10.1136/bmj.l6398

44. Programming of vascular dysfunction in the intrauterine milieu of diabetic pregnancies / N. A. Sallam [et al.] // Int. J. Mol. Sci. – 2018. – Vol. 19, N 11. – Art. 3665. https://doi.org/10.3390/ijms19113665

45. In utero exposure to maternal diabetes is associated with early abnormal vascular structure in offspring / A. Dib [et al.] // Front. Physiol. – 2018. – Vol. 9. – Art. 350. https://doi.org/10.3389/fphys.2018.00350

References

1. American Diabetes Association. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care*, 2014, vol. 37, suppl. 1, pp. 81–90. https://doi.org/10.2337/dc14-S081

2. Jones L. V. Techniques of monitoring blood glucose during pregnancy for women with pre-existing diabetes. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, 2019. Available at: https://doi.org/10.1002/14651858.CD009613.pub4/ (accessed 18 October 2020).

3. Macintosh M. C. M., Fleming K. M., Bailey J. A., Doyle P., Modder J., Acolet D., Golightly S., Miller A. Perinatal mortality and congenital anomalies in babies of women with type 1 or type 2 diabetes in England, Wales, and Northern Ireland: populationbased study. *BMJ*, 2006, vol. 333, no. 7560, art. 177. https://doi.org/10.1136/bmj.38856.692986.AE

4. Roglic G. WHO Global report on diabetes: a summary. *World Health Organization*. Available at: https://www.ijncd.org/text.asp?2016/1/1/3/184853/ (accessed 18 October 2020).

5. Feig D., Hwee J., Shah B. R., Booth G. L., Bierman A. S., LipscombeL. L. Trends in incidence of diabetes in pregnancy and serious perinatal outcomes: a large, population-based study in Ontario, Canada, 1996–2010. *Diabetes Care*, 2014, vol. 37, no. 6, pp. 1590–1596. https://doi.org/10.2337/dc13-2717

6. Ferrara A. Increasing prevalence of gestational diabetes mellitus: a public health perspective. *Diabetes Care*, 2007, vol. 30, suppl. 2, pp. S141–S146. https://doi.org/10.2337/dc07-s206

7. Albrecht S. S., Kuklina E. V., Bansil P., Jamieson D. J., Whiteman M. K., Kourtis A. P., Posner S. F., Callaghan W. M. Diabetes trends among delivery hospitalizations in the U. S., 1994–2004. *Diabetes Care*, 2010, vol. 33, no. 4, pp. 768–773. https://doi.org/10.2337/dc09-1801

8. Guariguata L., Linnenkamp U., Beagley J., Whiting D. R., Cho N. H. Global estimates of the prevalence of hyperglycaemia in pregnancy. *Diabetes Research and Clinical Practice*, 2014, vol. 103, no. 2, pp. 176–185. https://doi.org/10.1016/j.diabres.2013.11.003

9. Beyerlein A., von Kries R., Hummel M., Schiessl B., Giani G., Icks A. Improvement in pregnancy-related outcomes in the offspring of diabetic mothers in Bavaria, Germany, during 1987–2007. *Diabetic Medicine*, 2010, vol. 27, no. 12, pp. 1379–1384. https://doi.org/10.1111/j.1464-5491.2010.03109.x

10. Lipscombe L. L., Hux J. E. Trends in diabetes prevalence, incidence, and mortality in Ontario, Canada 1995–2005: a population-based study. *Lancet*, 2007, vol. 369, no. 9563, pp. 750–756. https://doi.org/10.1016/S0140-6736(07)60361-4

11. Balsells M., García-Patterson A., Gich I., Corcoy R. Maternal and fetal outcome in women with type 2 versus type 1 diabetes mellitus: a systematic review and metaanalysis. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 2009, vol. 94, no. 11, pp. 4284–4291. https://doi.org/10.1210/jc.2009-1231

12. Shand A. W., Bell J. C., McElduff A., Morris J., Roberts C. L. Outcomes of pregnancies in women with pre-gestational diabetes mellitus and gestational diabetes mellitus; a population-based study in New South Wales, Australia, 1998–2002. *Diabetic Medicine*, 2008, vol. 25, no. 6, pp. 708–715. https://doi.org/10.1111/j.1464-5491.2008.02431.x

13. Wren C. Cardiovascular malformations in infants of diabetic mothers. *Heart*, 2003, vol. 89, no. 10, pp. 1217–1220. https://doi.org/10.1136/heart.89.10.1217

14. Ray J. G., O'Brien T. E., Chan W. S. Preconception care and the risk of congenital anomalies in the offspring of women with diabetes mellitus: a meta-analysis. *QJM*, 2001, vol. 94, no. 8, pp. 435–444. https://doi.org/10.1093/qjmed/94.8.435

15. Vibeke A., van der Ploeg H. P., Cheung N. W., Huxley R. R., Bauman A. E. Socioeconomic correlation of the increasing trend in prevalence of gestational diabetes in large population of women between 1995–2005. *Diabetes Care*, 2008, vol. 31, no. 12, pp. 2288–2293. https://doi.org/10.2337/dc08-1038

16. Al-Biltagi M., Tolba O. A., Rowisha M. A., Mahfouz A., Elewa M. A. Speckle tracking and myocardial tissue imaging in infant of diabetic mother with gestational and pregestational diabetes. *Pediatric Cardiology*, 2015, vol. 36, no. 2, pp. 445–453. https://doi.org/10.1007/s00246-014-10330

17. Pauliks L. B. The effect of pregestational diabetes on fetal heart function. *Diabetes Care*, 2015, vol. 13, no. 1, pp. 67–74. https://doi.org/10.1586/14779072.2015.988141

18. Gibb A. A., Hill B. G. Metabolic coordination of physiological and pathological cardiac remodeling. *Circulation Research*, 2018, vol. 123, no. 1, pp. 107–128. https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.118.312017

19. Maillet M., van Berlo J. H., Molkentin J. D. Molecular basis of physiological heart growth: fundamental concepts and new players. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 2013, vol. 14, no. 1, pp. 38–48. https://doi.org/10.1038/nrm3495

20. Young M. E., McNulty P., Taegtmeyer H. Adaptation and maladaptation of the heart in diabetes: part II: potential mechanisms. *Circulation*, 2002, vol. 105, no. 15, pp. 1861–1870. https://doi.org/10.1161/01.cir.0000012467.61045.87

21. Eriksson U. J., Borg L. A. H. Diabetes and embryonic malformations. Role of substrate-induced free-oxygen radical production for dysmorphogenesis in cultured rat embryos. *Diabetes*, 1993, vol. 42, no. 3, pp. 411–419. https://doi.org/10.2337/diab.42.3.411

22. Kumar S. D., Dheen S. T., Tay S. S. Maternal diabetes induces congenital heart defects in mice by altering the expression of genes involved in cardiovascular development. *Cardiovascular Diabetology*, 2007, vol. 6, art. 34. https://doi.org/10.1186/1475-2840-6-34

23. Corrigan N., Brazil D. P., McAuliffe F. Fetal cardiac effects of maternal hyperglycemia during pregnancy. *Birth Defects Research*. *Part A: Clinical and Molecular Teratology*, 2009, vol. 85, no. 6, pp. 523–530. https://doi.org/10.1002/bdra.20567

24. Farrar D. Hyperglycemia in pregnancy: prevalence, impact, and management challenges. *International Journal of Women's Health*, 2016, vol. 8, pp. 519–527. https://doi.org/10.2147/IJWH.S102117

25. Kulkarni A., Li L., Craft M., Nanda M., Lorenzo J. M., Danford D., Kutty S. Fetal myocardial deformation in maternal diabetes mellitus and obesity. *Ultrasound in Obstetrics and Gynecology*, 2017, vol. 49, no. 5, pp. 630–636. https://doi.org/10.1002/uog.15971

26. Schulze C., Drosatos K., Goldberg I. J. Lipid use and misuse by the heart. *Circulation Research,* 2016, vol. 118, no. 11, pp. 1736–1751. https://doi.org/10.1161/circresaha.116.306842

27. Cade W. T., Levy P., Tinius R., Patel M. D., Choudhry S., Holland M. R., Singh G. K., Cahill A. G. Markers of maternal and infant metabolism are associated with ventricular dysfunction in infants of obese women with type 2 diabetes. *Pediatric Research*, 2017, vol. 82, no. 5, pp. 768–775. https://doi.org/10.1038/pr.2017.140

28. Jensen M. D., Nielsen S. Insulin dose response analysis of free fatty acid kinetics. *Metabolism*, 2007, vol. 56, no. 1, pp. 68–76. https://doi.org/10.1016/j.metabol.2006.08.022

29. Higgins M., Auliffe F. Mc. A review of maternal and fetal growth factors in diabetic pregnancy. *Current Diabetes Reviews*, 2010, vol. 6, no. 2, pp. 116–125. https://doi.org/10.2174/157339910790909431

30. Paauw N. D., Stegeman R., de Vroede M., Termote J. U. M., Freund M. W., Breur J. M. P. J. Neonatal cardiac hypertrophy: the role of hyperinsulinism – a review of literature. *European Journal of Pediatrics*, 2020, vol. 179, no. 1, pp. 39–50. https://doi.org/10.1007/s00431-019-03521-6

31. Ullmo S., Vial Y., di Bernardo S., Roth-Kleiner M., Mivelaz Y., Sekarski N., Ruiz J., Meijboom E. J. Pathologic ventricular hypertrophy in the offspring of diabetic mothers: a retrospective study. *European Heart Journal*, 2007, vol. 28, no. 11, pp. 1319–1325. https://doi.org/10.1093/ eurheartj/ehl416

32. Oberhoffer R., Högel J., Stoz F., Kohne E., Lang D. Cardiac and extracardiac complications in infants of diabetic mothers and their relation to parameters of carbohydrate metabolism. *European Journal of Pediatrics*, 1997, vol. 156, no. 4, pp. 262–265. https://doi.org/10.1007/s004310050596

33. Russell N. E., Holloway P., Quinn S., Foley M., Kelehan P., McAuliffe F. Cardiomyopathy and cardiomegaly in stillborn infants of diabetic mothers. *Pediatric and Developmental Pathology*, 2008, vol. 11, no. 1, pp. 10–14. https://doi.org/10.2350/07-05-0277.1

34. Ivashkevich A. B. *Characteristics of the state of the cardiovascular system in newborns from mothers with diabetes mellitus.* Abstract of Ph. D. diss. Minsk, 2012. 20 p. (in Russian).

35. Lysenko S. N. *Features of the formation of diabetic fetopathy: diagnosis and optimization of obstetric tactics.* Abstract of Ph. D. diss. Moscow, 2019. 48 p. (in Russian).

36. Sobeih A. A., Sakr M. A., Abolmaaty R. K. Assessment of cardiac diastolic function in infants of diabetic mothers using tissue Doppler echocardiography. *Egypt Pediatric Association Gaz*, 2020, vol. 68, art. 10. https://doi.org/10.1186/s43054-020-00021-3

37. Zablah J. E., Gruber D., Stoffels G., Cabezas E. G., Hayes D. A. Subclinical decrease in myocardial function in asymptomatic infants of diabetic mothers: a tissue doppler study. *Pediatric Cardiology*, 2017, vol. 38, no. 4, pp. 801–806. https://doi.org/10.1007/s00246-017-1584-y

38. Al-Biltagi M., Tolba O. A., Rowisha M. A., Mahfouz A., Elewa M. A. Speckle tracking and myocardial tissue imaging in infant of diabetic mother with gestational and pregestational diabetes. *Pediatric Cardiology*, 2015, vol. 36, no. 2, pp. 445–453. https://doi.org/10.1007/s00246-014-1033-0

39. Kozák-Bárány A., Jokinen E., Kero P., Tuominen J., Rönnemaa T., Välimäki I. Impaired left ventricular diastolic function in newborn infants of mothers with pregestational or gestational diabetes with good glycemic control. *Early Human Development*, 2004, vol. 77, no. 1–2, pp. 13–22. https://doi.org/10.1016/j.earlhumdev.2003.11.006. PMID: 15113627

40. Korraa A., Ezzat M. H., Bastawy M., Aly H., El-Mazaryand A.-A., El-Aziz L. A. Cardiac troponin I levels and its relation to echocardiographic findings in infants of diabetic mothers. *Italian Journal of Pediatrics*, 2012, vol. 38, art. 39. https://doi.org/10.1186/1824-7288-38-39

41. De Lemos J. A., McGuire D. K., Drazner M. H. B-type natriuretic peptide in cardiovascular disease. *Lancet*, 2003, vol. 362, no. 9380, pp. 316–322. https://doi.org/10.1016/S0140-6736(03)13976-1

42. Russell N. E., Higgins M. F., Amaruso M., Foley M., McAuliffe F. M. Troponin T and pro-B-type natriuretic peptide in fetuses of type 1 diabetic mothers. *Diabetes Car*e, 2009, vol. 32, no. 11, pp. 2050–2055. https://doi.org/10.2337/dc09-0552

43. Yu Yongfu, Arah O. A., Liew Z., Cnattingius S., Olsen J., Sørensen H. T. [et al.]. Maternal diabetes during pregnancy and early onset of cardiovascular disease in offspring: population based cohort study with 40 years of follow-up. *BMJ*, 2019, vol. 367, art. I6398. https://doi.org/10.1136/bmj.l6398

44. Sallam N. A., Palmgren V. A. C., Singh R. D., John C. M., Thompson J. A. Programming of vascular dysfunction in the intrauterine milieu of diabetic pregnancies. *International Journal of Molecular Sciences*, 2018, vol. 19, no. 11, art. 3665. https://doi.org/10.3390/ijms19113665

45. Dib A., Payen C., Bourreau J., Munier M., Grimaud L., Fajloun Z., Loufrani L., Henrion D., Fassot C. In utero exposure to maternal diabetes is associated with early abnormal vascular structure in offspring. *Frontiers in Physiology*, 2018, vol. 9, art. 350. https://doi.org/10.3389/fphys.2018.00350

Информация об авторах

Прилуцкая Вероника Анатольевна – канд. мед. наук, доцент. Белорусский государственный медицинский университет (пр. Дзержинского, 83, 220116, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: 2489861@rambler.ru

Сукало Александр Васильевич – академик, д-р мед. наук, профессор, заведующий кафедрой. Белорусский государственный медицинский университет (пр. Дзержинского, 83, 220116, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: childill1@bsmu.by

Деркач Татьяна Александровна – клин. ординатор. Белорусский государственный медицинский университет (пр. Дзержинского, 83, 220116, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: dr.tatyanaderkach@gmail.com

Information about the authors

Veranika A. Prylutskaya – Ph. D. (Med.), Associate Professor. Belarusian State Medical University (83, Dzerzhinski Ave., 220116, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: 2489861@rambler.ru

Alexander V. Sukalo – Academician, D. Sc. (Med.), Professor, Head of the Department. Belarusian State Medical University (83, Dzerzhinski Ave., 220116, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: childill1@bsmu.by

Tatsiana A. Dzerkach – Clinical resident. Belarusian State Medical University (83, Dzerzhinski Ave., 220116, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: dr.tatyanaderkach@gmail.com

ISSN 1814-6023 (Print)
ISSN 2524-2350 (Online)
УДК 617.7-085
https://doi.org/10.29235/1814-6023-2021-18-1-109-116

Поступила в редакцию 15.10.2020
Received 15.10.2020

Г. Р. Семак

Белорусский государственный медицинский университет, Минск, Республика Беларусь

МЕТОДЫ МЕДИКАМЕНТОЗНОЙ ТЕРАПИИ ХРОНИЧЕСКИХ ДИСТРОФИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ ГЛАЗНОЙ ПОВЕРХНОСТИ

Аннотация. Лечение хронических дистрофических заболеваний глазной поверхности всегда требует сопутствующей коррекции болезни сухого глаза (БСГ) тяжелой степени. Целью настоящей публикации явился анализ литературных данных, иллюстрирующих современные направления развития медикаментозной терапии хронических дистрофических заболеваний глазной поверхности, сопровождающихся тяжелой БСГ нешегреновской этиологии.

Поиск тематических публикаций осуществлялся в базе данных PubMed. По запросу «(dry-eye-disease AND treatment) NOT Sjögren» (фильтр: клинические исследования, рандомизированные контролируемые клинические исследования, метаанализы) за период с 2019 г. было найдено 56 результатов.

В обзор было включено 11 публикаций, описывающих результаты клинических исследований эффективности медикаментозных методов в лечении хронических дистрофический заболеваний роговицы.

В лечении БСГ тяжелой степени превалирующим направлением исследования является купирование воспаления в тканях глазной поверхности. Из нестероидных иммуномодулирующих препаратов наиболее часто изучались циклоспорин, а том числе в виде наноэмульсии, диквафосол и бевацизумаб. Была доказана их эффективность и безопасность. В Республике Беларусь нет единого подхода к ведению пациентов с тяжелой и коморбидной БСГ. Основным направлением является активация регенеративных процессов. При этом высокую эффективность демонстрирует плазма, обогащенная ростовыми факторами тромбоцитов, и субконъюнктивальное введение низкомолекулярного натрия гиалуроната.

Ключевые слова: дистрофические заболевания глазной поверхности, болезнь сухого глаза, плазма, обогащенная ростовыми факторами тромбоцитов, циклоспорин, диквафосол, гиалуроновая кислота

Для цитирования: Семак, Г. Р. Методы медикаментозной терапии хронических дистрофических заболеваний глазной поверхности / Г. Р. Семак // Вес. Нац. акад. навук Беларусі. Сер. мед. навук. – 2021. – Т. 18, № 1. – С. 109–116. https://doi.org/10.29235/1814-6023-2021-18-1-109-116

Galina R. Semak

Belarusian State Medical University, Minsk, Republic of Belarus

METHODS OF DRUG THERAPY FOR SEVERE DRY EYE DISEASE

Abstract. Treatment of chronic dystrophic diseases of the ocular surface always requires concomitant correction of severe dry eye disease (DED). The purpose of this publication was to analyze the literature data illustrating the current trends in the development of drug therapy for severe dry eye disease of non-Shegren's etiology.

The search for thematic publications was carried out in the PubMed database. The query "(dry-eye-disease AND treatment) NOT Sjögren" (filter: clinical trials, randomized controlled clinical trials, meta-analyzes) found 56 results since 2019.

The review included 11 publications describing the results of clinical studies of the effectiveness of drug methods in the treatment of severe DED.

In the treatment of severe DED, the prevailing direction of research is the relief of inflammation in the ocular surface tissues. Among the non-steroidal immunomodulatory drugs, the majority of studies were dedicated to cyclosporine, including its nanoemulsion form, diquafosol and bevacizumab. Their effectiveness and safety have been proven. In the Republic of Belarus, there is no unified approach to the management of patients with severe and comorbid DED. The main focus is on the activation of regenerative processes. Platelet rich plasma and subconjunctival administration of low molecular weight sodium hyaluronate demonstrated high efficiency.

Keywords: dystrophic diseases of the ocular surface, dry eye disease, platelet rich plasma, cyclosporine, diquafosol, hyaluronic acid

For citation: Semak G. R. Methods of drug therapy for severe dry eye disease. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seriya meditsinskikh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2021, vol. 18, no. 1, pp. 109–116 (in Russian). https://doi.org/10.29235/1814-6023-2021-18-1-109-116

© Семак Г. Р., 2021

Введение. Глазная поверхность представляет собой сложно функционирующий многокомпонентный комплекс структур, состояние каждой из которых влияет на прозрачность роговицы и непосредственно на зрительные функции. Любые дистрофические изменения глазной поверхности сопровождаются развитием болезни сухого глаза (БСГ) различной степени тяжести. Купирование ксероза является ключевым фактором эффективности терапии дистрофических поражений глазной поверхности и улучшения зрительных функций.

БСГ – широко распространенное заболевание, значительно снижающее зрительные функции и качество жизни пациентов, что имеет выраженные социально-экономические последствия. По разным данным, симптомы, ассоциированные с БСГ, встречаются у 20–50 % населения [1, 2].

Патогенез заболевания сложный и включает несколько звеньев, потенцирующих друг друга и приводящих к нарушению гомеостаза в тканях глазной поверхности, гиперосмолярности слезы, хроническому воспалению в эпителии роговицы и конъюнктивы, нестабильности слезной пленки, нейросенсорным нарушениям.

Лечение БСГ должно быть комплексным, многокомпонентным и последовательным. При этом необходимо понимать, что часто оно длительное и требует применения хирургических методов. Особенно в случае, когда БСГ сопровождается другой патологией глазной поверхности: кератитами, конъюнктивитами, дистрофиями роговицы различной этиологии. Все эти состояния либо вызывают недостаточность лимбальных стволовых клеток (ЛСК) различной степени тяжести, либо являются ее следствием. Недостаточность ЛСК ведет к замедлению регенерации поврежденного роговичного эпителия, потенцирует тяжелые поражения, для лечения которых необходимо применение трансплантации роговицы.

Современные методы консервативного лечения дистрофических поражений глазной поверхности включают стратегии слезозамещения, уменьшения оттока слезы, подавления воспаления в тканях глазной поверхности и модификации микроклимата глазной поверхности [3]. Согласно результатам большого количества исследований, применение инстилляций, содержащих натрия гиалуронат, позволяет добиться как субъективного, так и объективного улучшения проявлений БСГ. Лубриканты, содержащие гиалуроновую кислоту (ГК) высокой и низкой молекулярной массы, являются первой линией терапии и эффективны в монорежиме при БСГ I–II степени тяжести. В то же время при III–IV степени БСГ (тяжелой) или коморбидной БСГ подобный подход не позволяет добиться желаемого результата и требует применения нескольких препаратов, влияющих на разные патогенетические механизмы.

Цель настоящего обзора – анализ литературных данных, иллюстрирующих современные направления развития медикаментозной терапии хронических дистрофических заболеваний глазной поверхности, сопровождающихся тяжелой болезнью сухого глаза нешегреновской этиологии.

Материалы и методы исследования. Поиск тематических публикаций осуществлялся в базе данных PubMed. По запросу «(dry-eye-disease AND treatment) NOT Sjögren» (фильтр: клинические исследования, рандомизированные контролируемые клинические исследования, метаанализы) за период с 2019 г. было найдено 56 результатов. Из дальнейшего анализа исключались: публикации, описывающие методы восточной медицины, не имеющие доступного полного текста на английском языке, повторяющиеся статьи, статьи, касающиеся вопросов патогенеза, а не лечения БСГ, статьи, описывающие исследования лечения нетяжелой БСГ либо не содержащие информации о степени тяжести БСГ (см. рисунок).

Согласно TFOS DEWS II Management and Therapy Report, опубликованному в журнале The Ocular Surface в 2017 г. [13], медикаментозная терапия БСГ может быть направлена на восстановление недостаточности слезы, купирование патологии век и воспаления в тканях глазной поверхности.

Исходя из полученных результатов обзора оригинальных статей, опубликованных в 2019–2020 гг., в настоящее время в лечении БСГ тяжелой степени превалирующим направлением исследования является третий подход, означающий направленность на патогенетическое, а не симптоматическое лечение.

Гомеостаз слезной жидкости поддерживается в пределах слезной функциональной единицы (СФЕ), включающей глазную поверхность, слезные железы и иннервирующий аппарат [14]. Количество секретируемой слезы и частота мигательных движений регулируются импульсами с поверхности глаза и слизистой носа. Влияние оказывают также факторы внешней среды (влажность, скорость движения потоков воздуха, инсоляция) и сопутствующая общесоматическая патология (сахарный диабет, гипотиреоз, нарушения липидного обмена, артериальная гипертензия). В результате нарушается функционирование СФЕ, что ведет к развитию гиперосмолярности слезы, которая, являясь основным звеном патогенеза БСГ, повреждает глазную поверхность как непосредственно, так и индуцируя воспаление [15].



Алгоритм отбора статей для систематического обзора

Algorithm for selecting articles for systematic review

Результаты и их обсуждение. Результаты анализа включенных публикаций суммированы в таблице.

Считается, что гиперосмолярность запускает сигнальный каскад в клетках эпителия роговицы и конъюнктивы, приводящий к высвобождению провоспалительных цитокинов и протеаз (ИЛ-1, ИЛ-17, ИФН-γ, ФНО-α, матриксные металлопротеазы). Эти медиаторы, наряду с гиперосмолярностью как таковой, вызывают апоптоз бокаловидных и поверхностных эпителиальных клеток эпителия роговицы и конъюнктивы. Повреждение усиливается привлекаемыми в ткани глазной поверхности активированными Т-лимфоцитами [15]. Результатом воспаления являются эпителиопатия и нестабильность слезной пленки. Уменьшение времени разрыва слезной пленки увеличивает испарение водного компонента слезы, потенцирует гиперосмолярность и замыкает порочный круг патогенеза БСГ, что способствует прогрессированию дистрофии тканей глазной поверхности.

Местное применение глюкокортикоидов эффективно подавляет локальное воспаление и способствует улучшению состояния глазной поверхности [16]. Однако их использование сопряжено с побочными эффектами – офтальмогипертензией, катарактой, оппортунистическими инфекциями – даже в случае непродолжительного использования [13].

Из нестероидных иммуномодулирующих препаратов наиболее часто изучались циклоспорин, в том числе в виде наноэмульсии, диквафосол и бевацизумаб.

Диквафосол, являясь агонистом пуринергического рецептора P2Y2, стимулирует секрецию муцинового и водного компонента слезной пленки [17]. В настоящее время диквафосол 3 % одобрен для лечения БСГ только в Японии и Южной Корее, хотя его способность уменьшать OSDI, увеличивать слезопродукцию и восстанавливать липидный слой слезной пленки была показана в нескольких рандомизированных клинических исследованиях [18]. Также в ряде публикаций была отмечена способность натрия гиалуроната потенцировать эффекты диквафосола [19, 20]. При этом метаанализ, включавший 4 рандомизированных клинических исследования [4], не показал достоверно более высокой эффективности бесконсервантных слезозаменителей по сравнению со слезозаменителями, содержащими консерванты. Эффект оценивался с учетом динамики показателей OSDI, пробы Ширмера, времени разрыва слезной пленки, осмолярности слезы.

Циклоспорин, ингибируя кальциневрин, предотвращает активацию Т-лимфоцитов и последующее высвобождение провоспалительных цитокинов [21]. Биодоступность циклоспорина обусловлена его гидрофобной структурой. Наномицеллярная форма обладает большей биодоступностью и стабильностью, что потенциально повышает эффективность препарата [21].

Эффективность методов медикаментозной терапии тяжелой болезни сухого глаза

Effectiveness of drug therapy methods for severe dry eye disease

Авторы	Метод лечения	Режим	Сроки лечения	Время разрыва слезной пленки, с	Индекс OSDI	Проба Ширмера	Побочные эффекты
Ribeiro M. V. M. R. с соавт., 2019 (метаанализ) [4]							
Safarzadeh M. с соавт., 2016 [5]	Бесконсервантные слезозаменители (декстран 70 – 1 мг/мл, гипромеллоза – 3 мг/мл, гидроксипропил, метилцеллюлоза, хлорид натрия)	Нет данных	4 недели	Увеличение на 0,67 ($p < 0,001$)	Уменьшение на 11,66 ($p < 0,001$)	Увеличение на 0,62 мм ($p < 0,001$)	Нет данных
	Слезозаменители с консервантом (гидроксипропил метилцеллюлоза – 0,3 г, декстрана гидроксипропил – 0,1 г и бензалкония хлорид 0,01 %)	Нет данных	4 недели	Увеличение на 0,94 ($p < 0,001$)	Уменьшение на 9,54 ($p < 0,001$)	Увеличение на 0,46 мм ($p < 0,001$)	Нет данных
Nelson J. D. с соавт., 1988 [6]	Бесконсервантные слезозаменители (0,1 % натрия гиалуронат)	Нет данных	8 недель	Увеличение на 1,4 (стат. значимо)	Нет данных	Увеличение на 1,4 мм (стат. значимо)	Нет данных
	Слезозаменители с консервантом	Нет данных	8 недель	Увеличение на 1,5 (стат. значимо)	Нет данных	Увеличение на 1,3 мм (стат. значимо)	Нет данных
Nam K. с соавт., 2019 (метаанализ) [7]	Диквафосол 3 %	Нет данных	4 недели	Увеличение на 0,74 (95 % CI: 0,40–1,09) по сравнению с контрольной группой (слезозаменители с ГК)	Нет данных	Увеличение на 0,74 мм (95 % CI: 0,24–1,24) по сравнению с контрольной группой (слезозаменители с ГК)	Не было сообщений о токсичности или побочных эффектах диквафосола
Garcia-Conca V. с соавт., 2019 [8]	PRP из аутологичной плазмы	6 раз в день	30 дней	Увеличение на 1,7 ($p = 0,024$)	Уменьшение на 23,18 ($p = 0,001$)	Увеличение на 1,95 мм ($p = 0,001$)	Не отмечено
	Гиалуронат натрия 0,18 %	4 раза в день	30 дней	Увеличение на 0,2 ($p = 0,001$)	Уменьшение на 5,56 ($p = 0,001$)	Увеличение на 0,2 мм ($p = 0,001$)	Не отмечено
Sacchetti M. с соавт., 2019 [9]	Рекомбинантный человеческий фактор роста нервов (rhNGF) – 20 мг/мл	2 раза в день	4 недели	Увеличение на 2,6 ($p < 0,001$)	Уменьшение на 22,9 ($p < 0,001$)	Увеличение на 5,3 мм ($p < 0,001$)	Легкой степени: повышенная чувствительность глаз, раздражение глаз, зуд, болезненность век, затуманенность зрения
	Рекомбинантный человеческий фактор роста нервов (rhNGF) – 20 мг/мл	2 раза в день	4 недели	Увеличение на 0,5 ($p = 0,4$)	Уменьшение на 16,7 ($p < 0,001$)	Увеличение на 3 мм ($p = 0,0734$)	
Park C. H. с соавт., 2019 [10]	Циклоспорин 0,05 %, наноэмульсия	2 раза в день	12 недель	Увеличение на 1,69 ($p < 0,0001$)	Уменьшение на 13,03 ($p < 0,0001$)	Увеличение на 1,47 мм ($p = 0,0031$)	Раздражение конъюнктивы, чувство инородного тела, конъюнктивит (15 %)
	Циклоспорин 0,05 %	2 раза в день	12 недель	Увеличение на 1,29 ($p = 0,0006$)	Уменьшение на 12,98 ($p < 0,0001$)	Увеличение на 2,63 мм ($p = 0,0005$)	
	Диквафосол 3 %	6 раз в день	12 недель	Увеличение на 0,73 ($p = 0,0281$)	Уменьшение на 16,11 ($p < 0,0001$)	Увеличение на 1,06 мм (стат. незначимо)	
Lievens C. с соавт., 2019 [11]	Лубрикант на основе 1 %-ной карбоксиметил-целлюлозы (с высокой вязкостью)	2 раза в день	30 дней	Увеличение на 1 ($p < 0,001$)	Уменьшение на 7,5 ($p < 0,001$)	–	Ухудшение зрения (7 %), гиперемия конъюнктивы (5 %)
Kasetsuwan N. с соавт., 2020 [12]	Бевацизумаб 0,05 %	4 раза в день	12 недель	Увеличение на 2,43 ($p < 0,001$)	Уменьшение на 11,77 ($p < 0,001$)	Увеличение на 0,39 мм (стат. незначимо)	Не отмечалось

Согласно результатам исследований, наноэмульсия циклоспорина имеет такой же эффект в лечении БСГ, как и обычная его форма. При этом ее эффект сопоставим с эффектом диквафосола [10]. В то же время было отмечено, что циклоспорин демонстрирует недостаточную эффективность в лечении БСГ послеоперационной, БСГ, индуцированной ношением контактных линз, БСГ при эндокринной офтальмопатии [21].

Двойное слепое, плацебо-контролируемое рандомизированное исследование эффективности бевацизумаба 0,05 % в виде глазных капель для лечения БСГ III–IV степени (время разрыва слезной пленки менее 5 с) показало, что на фоне инстилляций бевацизумаба чаще увеличивалось время разрыва слезной пленки, более значительно снижался индекс OSDI по сравнению с плацебо. Не было выявлено побочных эффектов применения бевацизумаба 0,05 % в виде глазных капель при лечении БСГ [22].

Исследуется также эффективность применения биологических препаратов в лечении БСГ.

Фактор роста нервов (ФРН) играет важную роль в трофике, чувствительности и заживлении роговицы и конъюнктивы [23]. Рекомбинантный человеческий ФРН продуцируется *E. coli* и разрешен к применению в лечении тяжелых нейротрофических кератитов. Инстилляции ФРН в конъюнктивальную полость позволяли достичь уменьшения степени тяжести БСГ, стабилизировали водный и муциновый слои слезной пленки. Эффект от лечения сохранялся и на протяжении 4 недель после прекращения применения препарата [23].

Описано использование препаратов из крови для лечения заболеваний переднего отрезка глазного яблока. Эффективность местного применения плазмы крови при БСГ, эрозиях и язвах роговицы объясняется высоким содержанием в ней факторов роста. Пуповинная кровь, кроме этого, является источником стволовых клеток [24]. Обзор полученных данных показал, что плазма, обогащенная ростовыми факторами тромбоцитов (PRP) эффективнее других препаратов уменьшает проявления симптомов БСГ. При этом эффекты лучше проявляются при тяжелой БСГ и длительном применении аутологичной PRP [8].

В настоящее время в Республике Беларусь нет единого подхода к ведению пациентов с тяжелой и коморбидной БСГ. При наличии большого разнообразия слезозаменителей, высокоэффективных при лечении БСГ I–II степени, врачи сталкиваются со значительными трудностями при лечении тяжелых дистрофических заболеваний глазной поверхности.

Диквафосол зарегистрирован только на территории Японии и Южной Кореи, применение циклоспорина и бевацизумаба ограничивает их высокая стоимость. Биологические препараты сложны в изготовлении и применяются пока только в исследовательских целях.

Однако очевидно, что патогенетическая направленность терапии и комплексный подход приносят большую пользу пациентам с дистрофическими поражениями глазной поверхности. Важным компонентом, на наш взгляд, является активация регенеративных процессов в тканях глазной поверхности, особенно в случаях ее хронического тяжелого поражения.

Исследования, проводимые в последние годы в нашей стране, подтверждают эффективность применения плазмы, обогащенной ростовыми факторами тромбоцитов при буллезной кератопатии, острых воспалительных заболеваниях глазной поверхности, болезни трансплантата.

В эксперименте *in vitro* было выявлено рост-стимулирующее действие 5 % плазмы, обогащенной ростовыми факторами тромбоцитов, на мезенхимальные стволовые клетки. При культивировании в присутствии препарата низкомолекулярной ГК мезенхимальные стромальные клетки приобретали более удлиненные и утолщенные отростки (псевдоподии), морфологически более контрастные, отсутствовали клетки, отлипшие от дна культурального флакона, что свидетельствует об их активном росте и отсутствии нежизнеспособных округлых клеток. Результаты эксперимента позволяют говорить о благоприятном влиянии как плазмы, обогащенной ростовыми факторами тромбоцитов, так и низкомолекулярной ГК на стволовые клетки, что особенно важно при лечении хронических дистрофических заболеваний глазной поверхности, сопровождающихся недостаточностью лимбальных стволовых клеток.

В клинических исследованиях активно изучается влияние низкомолекулярной ГК на процессы, протекающие в тканях роговицы при хронических дистрофических заболеваниях роговицы [25]. Была исследована эффективность субконъюнктивального применения низкомолекулярного натрия гиалуроната в комплексном лечении кератитов, эндотелиально-эпителиальной дистрофии, болезни трансплантата, кератопатии на фоне глаукомы. С помощью иммуногистохимического метода было показано, что экзогенно введенная ГК низкой молекулярной массы CD44-опосредованно стимулирует синтез эндогенного гиалуронана, восстанавливая гомеостаз слезной пленки, что обеспечивает дли-

тельное сохранение эффекта от терапии. При этом молекула ГК в 500–700 кДа недостаточно индуцирует синтез и активацию провоспалительного ММР9 в эпителии роговицы [26].

Терапия с применением инъекционной формы низкомолекулярного натрия гиалуроната стабилизировала водный, муциновый и липидный слои слезной пленки, способствуя тем самым разрешению проявлений БСГ. После трехкратного еженедельного введения введения низкомолекулярного натрия гиалуроната у пациентов с БСГ на фоне эндотелиально-эпителиальной дистрофии наблюдалось увеличение показателя пробы Ширмера на 11 мм, увеличение времени разрыва слезной пленки на 4 с, снижение индекса OSDI на 36 пунктов по сравнению с начальными уровнями (результаты статистически достоверны) [27].

Заключение. Несмотря на многочисленные исследования и быстрое появление новых методов лечения БСГ, лечение тяжелых поражений глазной поверхности остается сложной задачей. Применяемые в этих целях препараты с доказанной эффективностью часто дорогостоящи. Для достижения эффекта приходится прибегать к длительному комбинированному лечению, в том числе с применением хирургических техник.

Основным направлением в лечении тяжелых поражений глазной поверхности в Республике Беларусь является активация регенеративных процессов. При этом высокую эффективность демонстрирует плазма, обогащенная ростовыми факторами тромбоцитов, и субконъюнктивальное введение низкомолекулярного натрия гиалуроната. Применение активаторов процессов регенерации потенцирует эффекты противовоспалительного лечения, создает благоприятное микроокружение ЛСК. Это позволяет не только восстановить гомеостаз слезы, но и поддерживать его в течение длительного времени, что актуально при лечении хронических дистрофических поражений тканей глазной поверхности, в том числе для сохранения и восстановления прозрачности роговицы. Предлагаемые методы лечения БСГ неинвазивны и широко доступны.

Конфликт интересов. Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

Список использованных источников

1. TFOS DEWS II definition and classification report / J. P. Craig [et al.] // Ocul. Surf. – 2017. – Vol. 15, N 3. – P. 276–283. https://doi.org/10.1016/j.jtos.2017.05.008

2. TFOS DEWS II epidemiology report / F. Stapleton [et al.] // Ocul. Surf. – 2017. – Vol. 15, N 3. – P. 334–365. https://doi.org/10.1016/j.jtos.2017.05.003

3. Nam, K. Efficacy and safety of topical 3 % diquafosol ophthalmic solution for the treatment of multifactorial dry eye disease: meta-analysis of randomized clinical trials / K. Nam, H. J. Kim, A. Yoo // Ophthalm. Res. – 2019. – Vol. 61, N 4. – P. 188–198. https://doi.org/10.1159/000492896

4. Effectiveness of using preservative-free artificial tears versus preserved lubricants for the treatment of dry eyes: a systematic review / M. V. M. R. Ribeiro [et al.] // Arq. Bras. Oftalmol. – 2019. – Vol. 82, N 5. – P. 436–445. https://doi.org/10.5935/0004-2749.20190097

5. Safarzadeh, M. Comparison of the clinical efficacy of preserved and preservative-free hydroxypropyl methylcellulose-dextran-containing eyedrops / M. Safarzadeh, P. Azizzadeh, P. Akbarshahi // J. Optometry. – 2017. – Vol. 10, N 4. – P. 258–264. https://doi.org/10.1016/j.optom.2016.11.002

6. Nelson, J. D. Sodium hyaluronate and polyvinyl alcohol artificial tear preparations: a comparison in patients with keratoconjunctivitis sicca / J. D. Nelson, R. L. Farris // Arch. Ophthalmol. – 1988. – Vol. 106, N 4. – P. 484–487. https://doi.org/10.1001/archopht.1988.01060130530029

7. Nam, K. Efficacy and safety of topical 3 % diquafosol ophthalmic solution for the treatment of multifactorial dry eye disease: meta-analysis of randomized clinical trials / K. Nam, H. J. Kim, A. Yoo // Ophthalm. Res. – 2019. – Vol. 61, N 4. – P. 188–198. https://doi.org/10.1159/000492896

8. Efficacy and safety of treatment of hyposecretory dry eye with platelet-rich plasma / V. Garcia-Conca [et al.] // Acta Ophthalmol. – 2019. – Vol. 97, N 2. – P. e170–e178. https://doi.org/10.1111/aos.13907

9. Effect of recombinant human nerve growth factor eye drops in patients with dry eye: a phase IIa, open label, multiple-dose study / M. Sacchetti [et al.] // Br. J. Ophthalmol. – 2020. – Vol. 104, N 1. – P. 127–135. https://doi.org/10.1136/bjophthalmol-2018-312470

10. Efficacy of topical cyclosporine nanoemulsion 0.05 % compared with topical cyclosporine emulsion 0.05 % and diquafosol 3 % in dry eye / C. H. Park [et al.] // Korean J. Ophthalmol. – 2019. – Vol. 33, N 4. – P. 343–352. https://doi.org/10.3341/kjo.2018.0116

11. Evaluation of an enhanced viscosity artificial tear for moderate to severe dry eye disease: a multicenter, double-masked, randomized 30-day study / C. Lievens [et al.] // Cont. Lens Anterior Eye. – 2019. – Vol. 42, N 4. – P. 443–449. https://doi.org/10.1016/j.clae.2018.12.003

12. Efficacy of topical bevacizumab 0.05 % eye drops in dry eye disease: a double-masked, randomized trial / N. Kasetsuwan [et al.] // PLoS ONE. – 2020. – Vol. 15, N 6. – P. e0234186. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0234186

13. TFOS DEWS II Management and Therapy Report / L. Jones [et al.] // Ocular Surface. – 2017. – Vol. 15, N 3. – P. 575–628. https://doi.org/10.1016/j.jtos.2017.05.006

14. The role of the lacrimal functional unit in the pathophysiology of dry eye / M. E. Stern [et al.] // Exp. Eye Res. – 2004. – Vol. 78, N 3. – P. 409–416. https://doi.org/10.1016/j.exer.2003.09.003

15. TFOS DEWS II Pathophysiology Report / A. J. Bron [et al.] // Ocular Surface. – 2017. – Vol. 15, N 3. – P. 438–510. https://doi.org/10.1016/j.jtos.2017.05.011

16. Comparison of topical dry eye medications for the treatment of keratoconjunctivitis sicca in a botulinum toxin B-induced mouse model / K. Lekhanont [et al.] // Cornea. – 2007. – Vol. 26, N 1. – P. 84–89. https://doi.org/10.1097/01.ico.0000240079.24583.a1

17. Tetrasodium increases the concentration of mucin-like substances in tears of healthy human subjects / Chika Shigeyasu [et al.] // Curr. Eye Res. – 2015. – Vol. 40, N 9. – P. 878–883. https://doi.org/10.3109/02713683.2014.967871

18. A randomised, parallel-group comparison study of diquafosol ophthalmic solution in patients with dry eye in China and Singapore / L. Gong [et al.] // Br. J. Ophthalmol. – 2015. – Vol. 99, N 7. – P. 903–908. https://doi.org/10.1136/bjophthalmol-2014-306084

19. Additive effect of preservative-free sodium hyaluronate 0.1 % in treatment of dry eye syndrome with diquafosol 3 % eye drops / H. S. Hwang [et al.] // Cornea. – 2014. – Vol. 33, N 9. – P. 935–941. https://doi.org/10.1097/ico.0000000000000213

20. Clinical evaluation of the additive effect of diquafosol tetrasodium on sodium hyaluronate monotherapy in patients with dry eye syndrome: a prospective, randomized, multicenter study / K. Kamiya [et al.] // Eye. – 2012. – Vol. 26, N 10. – P. 1363–1368. https://doi.org/10.1038/eye.2012.166

21. Systematic review of randomised clinical trials on topical ciclosporin A for the treatment of dry eye disease / M. Sacchetti [et al.] // Br. J. Ophthalmol. – 2014. – Vol. 98, N 8. – P. 1016–1022. https://doi.org/10.1136/bjophthalmol-2013-304072

22. Efficacy of topical bevacizumab 0.05 % eye drops in dry eye disease: A double-masked, randomized trial / N. Kasetsuwan [et al.] // PLoS ONE. – 2020. – Vol. 15, N 6. – P. e0234186. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0234186

23. Effect of recombinant human nerve growth factor eye drops in patients with dry eye: a phase IIa, open label, multiple-dose study / M. Sacchetti [et al.] // Br. J. Ophthalmol. – 2020. – Vol. 104, N 1. – P. 127–135. https://doi.org/10.1136/bjophthalmol-2018-312470

24. Blood-based treatments for severe dry eye disease: the need of a consensus / F. Bernabei [et al.] // J. Clin. Med. – 2019. – Vol. 8, N 9. – P. 1478. https://doi.org/10.3390/jcm8091478

25. Семак, Г. Р. Низкомолекулярная гиалуроновая кислота в лечении кератопатии на фоне глаукомы [Электронный ресурс] / Г. Р. Семак, И. Ю. Жерко // Достижения медицинской науки Беларуси – 2019. – Режим доступа: http://med.by/dmn/book.php?book=19-14_9. – Дата доступа: 09.03.2020.

26. Особенности экспрессии биомолекулярных маркеров (CD44, mmp9, TGFβ1) в оценке эффективности лечения эндотелиально-эпителиальной дистрофии роговицы / Г. Р. Семак [и др.] // Вес. Нац. акад. навук Беларусі. Сер. мед. навук. – 2019. – Т. 16, № 4. – Р. 477–487.

27. Семак, Г. Р. Клинические результаты использования препаратов гиалуроновой кислоты в лечении кератопатии / Г. Р. Семак, И. Ю. Жерко, Н. Г. Розуванова // Офтальмология. Вост. Европа. – 2019. – Т. 9, № 2. – С. 237–245.

References

1. Craig J. P., Nichols K. K., Akpek E. K., Caffery B., Dua H. S., Joo C.-K. [et al.]. TFOS DEWS II definition and classification report. *Ocular Surface*, 2017, vol. 15, no. 3, pp. 276–283. https://doi.org/10.1016/j.jtos.2017.05.008

2. Stapleton F., Alves M., Bunya V. Y., Jalbert I., Lekhanont K., Malet F. [et al.]. TFOS DEWS II epidemiology report. *Ocular Surface*, 2017, vol. 15, no. 3, pp. 334–365. https://doi.org/10.1016/j.jtos.2017.05.003

3. Nam K., Kim H. J., Yoo A. Efficacy and safety of topical 3 % diquafosol ophthalmic solution for the treatment of multifactorial dry eye disease: meta-analysis of randomized clinical trials. *Ophthalmic Research*, 2019, vol. 61, no. 4, pp. 188–198. https://doi.org/10.1159/000492896

4. Ribeiro M. V. M. R., Barbosa F. T., Ribeiro L. E. F., de Sousa-Rodrigues C. F., Ribeiro E. A. N. Effectiveness of using preservative-free artificial tears versus preserved lubricants for the treatment of dry eyes : a systematic review. *Arquivos brasileiros de* Oftalmologia*,* 2019, vol. 82, no. 5, pp. 436–445. https://doi.org/10.5935/0004-2749.20190097

5. Safarzadeh M., Azizzadeh P., Akbarshahi P. Comparison of the clinical efficacy of preserved and preservative-free hydroxypropyl methylcellulose-dextran-containing eyedrops. *Journal of Optometry*, 2017, vol. 10, no. 4, pp. 258–264. https://doi.org/10.1016/j.optom.2016.11.002

6. Nelson J. D., Farris R. L. Sodium hyaluronate and polyvinyl alcohol artificial tear preparations: a comparison in patients with keratoconjunctivitis sicca. *Archives of Ophthalmology*, 1988, vol. 106, no. 4, pp. 484–487. https://doi.org/10.1001/archopht.1988.01060130530029

7. Nam K., Kim H. J., Yoo A. Efficacy and safety of topical 3 % diquafosol ophthalmic solution for the treatment of multifactorial dry eye disease: meta-analysis of randomized clinical trials. *Ophthalmic Research*, 2019, vol. 61, no. 4, pp. 188–198. https://doi.org/10.1159/000492896

8. Garcia-Conca V., Abad-Collado M., Hueso-Abancens J. R., Mengual-Verdú E., Piñero D. P., Aguirre-Balsalobre F., Molina J. C. Efficacy and safety of treatment of hyposecretory dry eye with platelet-rich plasma. *Acta Ophthalmologica*, 2019, vol. 97, no. 2, pp. e170–e178. https://doi.org/10.1111/aos.13907

9. Sacchetti M., Lambiase A., Schmidl D., Schmetterer L., Ferrari M., Mantelli F., Allegretti M., Garhoefer G. Effect of recombinant human nerve growth factor eye drops in patients with dry eye: a phase IIa, open label, multiple-dose study. *British Journal of Ophthalmology*, 2020, vol. 104, no. 1, pp. 127–135. https://doi.org/10.1136/bjophthalmol-2018-312470

10. Park C. H., Kim M. K., Kim E. C., Kim J. Y., Kim T. I., Kim H. K. [et al.]. Efficacy of topical cyclosporine nanoemulsion 0.05 % compared with topical cyclosporine emulsion 0.05 % and diquafosol 3 % in dry eye. *Korean Journal of Ophthalmology*, 2019, vol. 33, no. 4, pp. 343–352. https://doi.org/10.3341/kjo.2018.0116

11. Lievens C., Berdy G., Douglass D., Montaquila S., Lin H., Simmons P., Carlisle-Wilcox C., Vehige J., Haque S. Evaluation of an enhanced viscosity artificial tear for moderate to severe dry eye disease: a multicenter, double-masked, randomized 30-day study. *Contact Lens and Anterior Eye*, 2019, vol. 42, no. 4, pp. 443–449. https://doi.org/10.1016/j.clae.2018.12.003

12. Kasetsuwan N., Chantaralawan K., Reinprayoon U., Uthaithammarat L. Efficacy of topical bevacizumab 0.05 % eye drops in dry eye disease: a double-masked, randomized trial. *PLoS ONE*, 2020, vol. 15, no. 6, p. e0234186. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0234186

13. Jones L., Downie L. E., Korb D., Benitez-del-Castillo J. M., Dana R., Deng S. X. [et al.]. TFOS DEWS II Management and Therapy Report. *Ocular Surface*, 2017, vol. 15, no. 3, pp. 575–628. https://doi.org/10.1016/j.jtos.2017.05.006

14. Stern M. E., Gao J., Siemasko K. F., Beuerman R. W., Pflugfelder S. C. The role of the lacrimal functional unit in the pathophysiology of dry eye. *Experimental Eye Research*, 2004, vol. 78, no. 3, pp. 409–416. https://doi.org/10.1016/j.exer.2003.09.003

15. Bron A. J., de Paiva C. S., Chauhan S. K., Bonini S., Gabison E. E., Jain S. TFOS DEWS II pathophysiology report. *Ocular Surface*, 2017, vol. 15, no. 3, pp. 438–510. https://doi.org/10.1016/j.jtos.2017.05.011

16. Lekhanont K., Leyngold I., Suwan-Apichon O., Rangsin R., Chuck R. S. Comparison of topical dry eye medications for the treatment of keratoconjunctivitis sicca in a botulinum toxin B-induced mouse model. *Cornea*, 2007, vol. 26, no. 1, pp. 84–89. https://doi.org/10.1097/01.ico.0000240079.24583.a1

17. Chika Shigeyasu, Shinichiro Hirano, Yoko Akune, Masakazu Yamada. Diquafosol tetrasodium increases the concentration of mucin-like substances in tears of healthy human subjects. *Current Eye Research*, 2015, vol. 40, no. 9, pp. 878–883. https://doi.org/10.3109/02713683.2014.967871

18. Gong L, Sun X, Ma Z. [et al]. A randomised, parallel-group comparison study of diquafosol ophthalmic solution in patients with dry eye in China and Singapore. *British Journal of Ophthalmology*, 2015, vol. 99, no. 7, pp. 903–908. https://doi.org/10.1136/bjophthalmol-2014-306084

19. Hwang H. S., Sung Y.-M., Lee W. S., Kim E. C. Additive effect of preservative-free sodium hyaluronate 0.1 % in treatment of dry eye syndrome with diquafosol 3 % eye drops. *Cornea*, 2014, vol. 33, no. 9, pp. 935–941. https://doi.org/10.1097/ico.0000000000000213

20. Kamiya K., Nakanishi M., Ishii R., Kobashi H., Igarashi A., Sato N., Shimizu K. Clinical evaluation of the additive effect of diquafosol tetrasodium on sodium hyaluronate monotherapy in patients with dry eye syndrome: a prospective, randomized, multicenter study. *Eye*, 2012, vol. 26, no. 10, pp. 1363–1368. https://doi.org/10.1038/eye.2012.166

21. Sacchetti M., Mantelli F., Lambiase A., Mastropasqua A., Merlo D., Bonini S. Systematic review of randomised clinical trials on topical ciclosporin A for the treatment of dry eye disease. *British Journal of Ophthalmology*, 2014, vol. 98, no. 8, pp. 1016–1022. https://doi.org/10.1136/bjophthalmol-2013-304072

22. Kasetsuwan N., Chantaralawan K., Reinprayoon U., Uthaithammarat L. Efficacy of topical bevacizumab 0.05 % eye drops in dry eye disease: a double-masked, randomized trial. *PLoS ONE*, 2020, vol. 15, no. 6, p. e0234186. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0234186

23. Sacchetti M., Lambiase A., Schmidl D., Schmetterer L., Ferrari M., Mantelli F., Allegretti M., Garhoefer G. Effect of recombinant human nerve growth factor eye drops in patients with dry eye: a phase IIa, open label, multiple-dose study. *British Journal of Ophthalmology*, 2020, vol. 104, no. 1, pp. 127–135. https://doi.org/10.1136/bjophthalmol-2018-312470

24. Bernabei F., Roda M., Buzzi M., Pellegrini M., Giannaccare G., Versura P. Blood-based treatments for severe dry eye disease: the need of a consensus. *Journal of Clinical Medicine*, 2019, vol. 8, no. 9, p. 1478. https://doi.org/10.3390/jcm8091478

25. Semak G. R., Zherko I. Yu. Low molecular weight hyaluronic acid in the treatment of keratopathy with glaucoma. *Achievements of the medical science of Belarus – 2019.* Available at: http://med.by/dmn/book.php?book=19-14_9 (accessed 09.03.2020) (in Russian).

26. Semak G. R., Zakharova V. A., Kletskii S. K., Letkovskaya T. A., Zherko I. Yu. Features of the biomolecular markers expression (CD44, MMP9, TGFβ1) in assessing the effectiveness of the endothelial-epithelial corneal dystrophy treatment. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya medytsynskikh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2019, vol. 16, no. 4, pp. 477–487 (in Russian).

27. Semak G. R., Zherko I. Yu., Rozuvanova N. G. Clinical results of the hyaluronic acid use in the treatment of keratopathy. *Oftal'mologiya. Vostochnaya Evropa* [Ophthalmology. Eastern Europe], 2019, vol. 9, no. 2, pp. 237–245 (in Russian).

Информация об авторе

Семак Галина Романовна – канд. мед. наук, доцент. Белорусский государственный медицинский университет (пр. Дзержинского, 83, 220116, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: semakgalina@mail.ru, https://orcid.org/0000-0002-8505-8273

Information about the author

Galina R. Semak – Ph. D. (Med.), Associate Professor. Belarusian State Medical University (83, Dzerzhinski Ave., 220116, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: semakgalina@mail.ru, https://orcid.org/0000-0002-8505-8273

ISSN 1814-6023 (Print)
ISSN 2524-2350 (Online)
УДК 577.175.53:577.175.44
https://doi.org/10.29235/1814-6023-2021-18-1-117-126

Поступила в редакцию 05.02.2020
Received 05.02.2020

Е. А. Гусакова, И. В. Городецкая

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

ВЛИЯНИЕ ГЛЮКОКОРТИКОИДНЫХ ГОРМОНОВ НА ФУНКЦИЮ ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Аннотация. На основании проведенного анализа данных литературы установлено, что введение экзогенных аналогов глюкокортикоидных гормонов (кортизона, гидрокортизона, кортикостерона, дексаметазона, бетаметазона и др.) приводит к изменению тиреоидной функции на всех уровнях (биосинтеза и секреции гормонов щитовидной железой, их транспорта, взаимодействия с рецепторами в органах-мишенях, биологического действия, метаболизма и экскреции), а также к влиянию на ее регуляцию как трансгипофизарно (блокирует секрецию тиреолиберина, тиреотропного гормона, кортиколиберина, соматолиберина и продукцию соматотропного гормона под влиянием последнего), так и парагипофизарно (стимулирует образование инсулина β-инсулоцитами поджелудочной железы).

Ключевые слова: стресс, йодсодержащие тиреоидные гормоны, регуляция функции щитовидной железы, глюкокортикоиды

Для цитирования: Гусакова, Е. А. Влияние глюкокортикоидных гормонов на функцию щитовидной железы / Е. А. Гусакова, И. В. Городецкая // Вес. Нац. акад. навук Беларусі. Сер. мед. навук. – 2021. – Т. 18, № 1. – С. 117–126. https://doi.org/10.29235/1814-6023-2021-18-1-117-126

Elena A. Gusakova, Irina V. Gorodetskaya

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

INFLUENCE OF GLUCOCORTICOID HORMONES ON THE THYROID GLAND FUNCTION

Abstract. The injection of exogenous analogues of glucocorticoid hormones (cortisone, hydrocortisone, corticosterone, dexamethasone, betamethasone, etc.) leads to a change in thyroid function at all levels (biosynthesis and secretion of hormones by the thyroid gland, the transport, interaction with receptors in target organs, biological action, their metabolism and excretion). Glucocorticoid hormones change regulationof the thyroid function: transhypophysially (glucocorticoids block the secretion of thyroliberin, thyroid stimulating hormone, corticotropin releasing hormone, somatoliberin and the production of somatotropin under the influence of the last one) and parahypophysially (glucocorticoids stimulate formation of insulin in β-cells of the pancreas).

Keywords: stress, iodine-containing thyroid hormones, regulation of thyroid function, glucocorticoids

For citation: Gusakova E. A., Gorodetskaya I. V. Influence of glucocorticoid hormones on the thyroid gland function. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seriya meditsinskikh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2021, vol. 18, no. 1, pp. 117–126 (in Russian). https://doi.org/10.29235/1814-6023-2021-18-1-117-126

Введение. Проблема изучения механизмов развития стресса приобретает все бóльшую научную и практическую значимость, обусловленную ростом социальной, экономической, экологической, техногенной напряженности. В развитии стресс-реакции участвуют три оси: гипоталамо-гипофизарно-адренокортикальная, соматотропная и тиреоидная. Однако вопрос об их взаимодействии не изучен.

В настоящее время одно из ведущих мест в структуре эндокринологической патологии занимает тиреоидная дисфункция, профилактика и лечение которой являются одними из приоритетов всех национальных систем здравоохранения [1]. С каждым годом увеличивается число пациентов, утративших трудоспособность вследствие данной патологии. По данным, полученным в последние годы, в формировании ответной реакции организма на действие экстремальных раздражителей важную роль играют йодсодержащие гормоны щитовидной железы (ЙТГ) [2], а в ее энергетическом обеспечении – глюкокортикоиды.

Цель исследования − на основании анализа данных литературы изучить влияние глюкокортикоидов на тиреоидную функцию.

Материалы и методы исследования. Для достижения поставленной цели нами был использован аналитический метод – анализ монографий, результатов, опубликованных в физиологических и медицинских журналах, а также представленных на интернет-ресурсах (использовали поисковые системы

© Гусакова Е. А., Городецкая И. В., 2021

Google, Pubmed, eLIBRARY с отбором литературных источников по ключевым словам – глюкокортикоиды, гормоны щитовидной железы).

Результаты и их обсуждение. Тиреоидная функция – это сложная система взаимосвязанных процессов, отражающих на разных уровнях как специфику и силу гормонального сигнала, так и чувствительность реагирующих тканей. На основании проведенного анализа литературных источников установлено, что глюкокортикоиды влияют на все звенья тиреоидной функции: 1) биосинтез и секрецию гормонов железой; 2) транспорт их кровью; 3) взаимодействие с органами-мишенями; 4) реализацию биологического действия; 5) метаболизм и экскрецию гормонов.

Влияние глюкокортикоидов на тиреоидную функцию.

Биосинтез и секреция ЙТГ щитовидной железой: гидрокортизон (внутрибрюшинно в дозе 10 мг/100 г) – через 5–60 мин после однократной инъекции морфология тироцитов и активность в них тиреопероксидазы, катализирующей йодинирование тирозиновых остатков тиреоглобулина и слияние йодотирозинов в процессе синтеза тироксина (Т4) и трийодтиронина (Т3), не изменялись. Однако после 7-дневного введения активность тиреопероксидазы уменьшалась, как и количество секреторных элементов в эндокринной паренхиме щитовидной железы из-за трансформации тироцитов в нефункционирующие «светлые» клетки [3].

Транспорт ЙТГ кровью: гидрокортизон: 1) в опытах *in vitro* (инкубация клеточной линии и первичных культур эпителиальных клеток хориоидного сплетения крысы в 10, 100, 1000 нМ растворах) – увеличение экспрессии переносчика ЙТГ транстиретина через 12 и 18 ч во всех пробах, через 24 ч – только при использовании 100 нМ раствора. В клеточной линии эффект наблюдался и после 36 ч инкубации, но только при применении 10 и 100 нМ растворов. Эффект гидрокортизона (инкубация клеточной линии хориоидного сплетения в 100 нМ растворе в течение 12 ч) подавлялся антагонистами глюкокортикоидных (1,16 мкМ раствор мифепристона) и минералокортикоидных (1 мкМ раствор спиронолактона) рецепторов; 2) в опытах *in vivo* (для повышения уровня кортикостероидов в крови самцов и самок крыс подвергали воздействию острого (в течение 24 ч) (повышение приблизительно в 6 и 4 раза) и хронического (в течение 9 недель) (повышение в 2 и 2,5 раза) психосоциального стресса, помещая по 9 особей в полипропиленовые клетки размером 480×375×210 мм (площадь пола 166 см^2/животное) – возрастание экспрессии транстиретина и его мРНК в печени и сосудистом сплетении, экспрессии транстиретина в спинномозговой жидкости [4];

метилпреднизолон (инкубация В-лимфоцитов, полученных от здоровых доноров, в 5,34 мкМ растворе в течение 4, 24 и 48 ч) – экспрессия иммуноглобулина М, относящегося к тироксинсвязывающим транспортным белкам плазмы крови [5], на поверхности указанных клеток снижалась на 16, 58 и 68 % [6].

Взаимодействие ЙТГ с рецепторами в органах-мишенях: гидрокортизон (инкубация смешанной (содержащей нейроны, олигодендроглию и астроглию) и нейронно-обогащенной культур клеток головного мозга крыс с 0,3 мкМ раствором гормона) – увеличение уровня мРНК TRα1 (TR – thyroid receptor: рецептор тиреоидных гормонов) в 5 раз на 13-е сутки инкубации [7];

дексаметазон (внутрибрюшинно 50, 125 и 250 мкг/100 г веса каждые 12 ч в течение 48 ч) – повышение уровня TRβ1 на 52 % в клетках печени адреналэктомированных крыс при использовании дозы 250 мкг/100 г, увеличение содержания мРНК TRβ1 на 43 и 74 % – при 125 и 250 мкг/100 г, рост скорости транскрипции на 255 % – при 250 мкг/100 г, связанный со стимуляцией транскрипционной активности промотора TRβ1, индуцирование связывания белков с последовательностью ДНК сайта промотора TRβ1 [8].

Биологическое действие ЙТГ: дексаметазон (инкубация эмбриональных цереброкортикальных клеток интактных мышей и мышей с дефицитом TRa1 рецептора тиреоидных гормонов в 10 нМ растворе гормона в течение 48 ч) – увеличение мРНК (полимеразная цепная реакция) генов, экспрессия которых в мозге регулируется тиреоидными гормонами, Klf9 (Krupfel-like transcription factor 9 или Basic Transcription Element Binding Protein) и Aldh1a1 (альдегиддегидрогеназа 1a1, ген, чувствительный к гипотиреозу, индуцированному блокадой образования гормонов щитовидной железы, но не к гипотиреозу в результате инактивации гена дейодиназы Dio2 и гена, кодирующего синтез переносчиков тиреоидных гормонов Mct8). Дексаметазон и Т3 (1 нМ раствор) оказывали синергический эффект на стимуляцию экспрессии указанных генов. Эти результаты свидетельствуют о взаимодействии гормонов щитовидной железы и глюкокортикоидов в процессе развития нервной системы [9].

Метаболизм ЙТГ: дексаметазон (через пупочную вену самкам крыс 1–5 мкг/г) – падение активности дейодиназы D1 (обеспечивает до 30–40 % быстрой внетиреоидной продукции Т3) в печени и почках 20-дневных плодов, а также активности дейодиназы D3 (дейодирует внутреннее кольцо и катализирует превращение Т4 в rТ3 и Т3 в Т2 (оба – неактивные метаболиты), rТ3 в rТ2) в печени и в то же время увеличение активности дейодиназ D3 и D2 (последняя обеспечивает до 70 % медленной внетиреоидной продукции Т3) в мозге. У 5-дневных крысят активность дейодиназ D3 в печени и почках и D2 в мозге повысилась, тогда как активность дейодиназы D3 в мозге снизилась. У 12-дневных крысят, как и у 5-дневных,

активность дейодиназы D3 в печени и почках возросла, однако активность D2 в мозге уменьшилась. Таким образом, глюкокортикоиды стимулируют активность гормонов щитовидной железы в мозге только в течение короткого периода развития животных [10];

дексаметазон (внутримышечно 12 мг беременным овцам, дважды с 24-часовыми интервалами) – повышение активности дейодиназы D1 в печени и снижение активности D3 в почках плодов и в плаценте овец [11];

дексаметазон (инъекция 50 мкг эмбрионам цыплят на 18-й день) – увеличение экспрессии и активности мРНК дейодиназы D2 в мозге [12];

дексаметазон (инкубация стромально-сосудистой фракции клеток бурой жировой ткани крыс в 50 нМ растворе в течение ночи) – снижение активности и уровня мРНК дейодиназы D3 [13].

Вышеописанные изменения тиреоидной функции под влиянием глюкокортикоидов связаны с влиянием последних на ее регуляцию транс- и парагипофизарно.

Влияние глюкокортикоидов на трансгипофизарную регуляцию функции щитовидной железы.

На уровне тиреотропин-рилизинг гормона (ТРГ): кортикостерон (перорально 200 мкг/мл в течение 11 дней) и дексаметазон (2,5 мкг/мл аналогичным образом) – снижение уровня мРНК про-ТРГ на 73 % в паравентрикулярном ядре гипоталамуса крыс. При адреналэктомии, напротив, – его увеличение на 68 %. Обнаруженные сдвиги концентрации мРНК про-ТРГ приводили к соответствующим изменениям биосинтеза и секреции ТРГ-высвобождающего фактора (рилизинг-фактора), способствующего образованию и выделению тиреотропного гормона (ТТГ, специфического активатора биосинтеза T_3 и T_4) из гипофизиотропных нейронов гипоталамуса [14];

кортикостероиды (в разных дозах в зависимости от типа заболевания пациентов) – снижение количества мРНК ТРГ в паравентрикулярном ядре гипоталамуса (гибридизация *in situ*), сопровождающееся уменьшением уровня ТТГ в сыворотке крови [15];

дексаметазон (добавление 10^{-8} М раствора в культуру нейронов промежуточного мозга 17-дневных плодов крыс, инкубируемую в присутствии 5′-брома-2-дезоксиуридина, клеточно-дифференцирующего агента, стимулирующего экспрессию гена ТРГ) – увеличение содержания ТРГ в 2,2 раза и мРНК ТРГ в 1,6 (неизотопная гибридизация *in situ*) и в 3 раза (Northern блот анализ с использованием меченого ^{32}P комплементарного РНК-зонда), скорости транскрипции в 7,7 раза (ядерный run-on анализ). Следовательно, дексаметазон повышает экспрессию ТРГ и уровень мРНК ТРГ за счет стимуляции транскрипции [16]. Однако в зависимости от концентрации дексаметазона (инкубация клеток гипоталамуса в течение 1–3 ч) может проявляться и его ингибирующий эффект – через 1 ч инкубации дозозависимый бифазный эффект на уровень мРНК ТРГ (метод полимеразной цепной реакции): при использовании 10^{-10} М раствора – снижение, 10^{-8}–10^{-6} М – увеличение, 10^{-5}–10^{-4} М – падение. Стимулирующее действие 10^{-8} М раствора не зависело от синтеза белка, о чем свидетельствует предварительная обработка ингибитором синтеза белка циклогексимидом. Изменения уровня мРНК ТРГ коррелировали с изменением числа клеток, продуцирующих ТРГ. Инкубация с аналогом циклического аденозинмонофосфата (цАМФ) 8-бром-цАМФ или с активатором протеинкиназы С 12-О-тетрадеканоилфорбол-13-ацетатом повышала концентрацию мРНК ТРГ через 1 и 2 ч соответственно. Методом гибридизации *in situ* было обнаружено увеличение экспрессии мРНК ТРГ в клетках, обработанных либо дексаметазоном, либо 8Br-цАМФ. Установлено взаимодействие дексаметазона, сигнальных путей протеинкиназ С и А. Стимулирующий эффект 10^{-7} М раствора активатора протеинкиназы С на уровень мРНК ТРГ был аддитивен таковому дексаметазона. Напротив, коинкубация с 10^{-3} М раствором аналога цАМФ и дексаметазоном уменьшала стимулирующий эффект обоих препаратов. Ингибирование наблюдалось, когда аналог цАМФ коинкубировали с активатором протеинкиназы А или с ним и дексаметазоном. Эти результаты свидетельствуют о том, что дексаметазон может быстро регулировать биосинтез ТРГ, и указывают на взаимодействие между цАМФ, глюкокортикоидными рецепторами и сигнальными путями протеинкиназы С [17].

Несоответствие между описанными эффектами кортикостероидов на уровень мРНК ТРГ в гипоталамусе (ингибирующим *in vivo* и стимулирующим *in vitro*) может быть частично объяснено их непрямым действием, учитывая отсутствие афферентных влияний на культивируемые нейроны.

Глюкокортикоиды влияют на уровень ТРГ не только в гипоталамусе, но и в других тканях, например в поджелудочной железе, в β-клетках которой наблюдается своеобразный онтогенетический паттерн изменения содержания ТРГ – быстрое увеличение с пиком на 3-й день после рождения:

дексаметазон (1 мкг/100 г в день) – прекращение роста концентрации ТРГ в поджелудочной железе на 2-й день развития без изменений в системе его разрушения. В плазме – значительное снижение уровня ТТГ в этот же период. Следовательно, дексаметазон влияет на содержание ТРГ в поджелудочной железе новорожденных крыс не через модуляцию активности системы метаболизма ТРГ [18].

На уровне ТТГ: дексаметазон (подкожно самкам крыс в дозе 1 мг/кг на 16-й день беременности, по 0,5 мг/кг на 17-й и 18-й дни) – уменьшение количества иммуногистохимически выявляемых клеток, секретирующих ТТГ, на единицу площади и их объемной плотности в гипофизе 19-дневных плодов [19];

гиперкортицизм – сниженный уровень ТТГ в сыворотке крови у 37 % пациентов, отрицательно коррелирующий с повышенным содержанием кортизола; гипотиреоз центрального генеза у 26 % пациентов до начала лечения (резекция аденомы гипофиза или бронхиального карциноида, адреналэктомия с последующей заместительной терапией преднизолоном) [20];

гиперкортицизм (гипофизарного или первично-надпочечникового происхождения) – уменьшение параметров, характеризующих «пульсации» ритма секреции ТТГ и среднюю его концентрацию в крови после «выброса» (mass secreted per burst). Суммарный суточный уровень ТТГ отрицательно коррелировал (линейно) с секрецией кортизола. Эти результаты указывают на индукцию дисрегуляции секреции ТТГ избыточными количествами глюкокортикоидов [21];

гиперкортицизм – высокая распространенность заболеваний щитовидной железы, определяемых по одному или более диагностическим критериям (зоб, наличие антитиреоидных антител и/или нарушения тиреоидной функции): у 21,2 % пациентов до постановки диагноза синдромома Кушинга, у 36,4 % – во время, у 42,4 % – после устранения симптомов гиперкортизолизма (в результате удаления аденомы гипофиза или радиотерапевтического воздействия на нее, односторонней адреналэктомии или резекции карциноидной опухоли легких) [22].

Помимо блокирования продукции ТРГ паравентрикулярным ядром гипоталамуса и ТТГ тиреотрофами гипофиза существуют и другие возможности реализации регулирующего секреторную функцию щитовидной железы действия глюкокортикоидов:

I. Трансгипофизарно: угнетение образования кортикотропин-рилизинг гормона (КРГ) гипоталамусом, вследствие чего:

1) подавляется секреция адренокортикотропного гормона (АКТГ). С учетом реципрокных взаимоотношений между ним и ТТГ продукцияпоследнего возрастает. Доказательства: 1) у более чем половины пациентов с дефицитом АКТГ в крови наблюдается высокий базальный и/или ТРГ-индуцированный уровень ТТГ в плазме. Указанный эффект устраняется заместительной терапией глюкокортикоидами [23]; 2) у пациентов с синдромом Кушинга (АКТГ-зависимым и АКТГ-независимым) существует отрицательная корреляция между уровнем кортизола и концентрацией ТТГ в крови [20];

2) КРГ через соматостатин ингибирует секрецию ТРГ и ТТГ, подавляя, таким образом, тиреоидную функцию [24].

Ингибирование продукции соматотропин-рилизинг-гормона (СРГ) гипоталамусом приводит к снижению образования соматотропного гормона (СТГ) соматотрофами гипофиза: введение дексаметазона крысам (внутрибрюшинно в дозе 40 мкг/кг) способствовало уменьшению роста секреции СТГ в ответ на введение СРГ (внутривенно 100 мкг) в течение 15 мин после инъекции дексаметазона. Введение последнего препарата в течение 35 дней значительно снижало вес тела животных. Указанные эффекты блокировали путем иммунизации крыс антисывороткой к соматостатину [25].

Подавление секреции СТГ может быть обусловлено действием КРГ через соматостатин [24].

В свою очередь СТГ угнетает тироксиногенез, поскольку реципрокно тормозит секрецию ТТГ:

введение СТГ (подкожно по 0,21 ± 0,02 мг/кг в неделю) – падение уровня ТТГ в сыворотке крови детей (возраст 12,2 ± 2,4 года) с бионеактивным СТГ (после 1 года лечения), значительное снижение концентрации Т4св в указанной группе, как и у детей, имеющих либо нарушение секреции СТГ, либо нейросекреторную дисфункцию (после 3–6 мес. лечения). Секреция наиболее важного периферического медиатора активности СТГ – инсулиноподобного фактора роста (ИФР-1) и его биодоступность повышались во все периоды исследования во всех группах пациентов [26];

введение СТГ (подкожно по 0,2 мг/кг в неделю в течение 1 года) – уменьшение содержания ТТГ на 24 %, приводящее к снижению уровня Т4 на 10 % в крови детей и подростков (возраст 6–15 лет) с идиопатическим дефицитом СТГ на фоне повышения концентрации ИФР-1 в 2,3 раза, при этом объем щитовидной железы не изменялся [27].

Влияние СТГ на тироксиногенез зависит от его дозы и возраста пациентов:

введение СТГ (подкожно в высоких (0,1 ед/кг) или низких (0,05 ед/кг) дозах в течение 1, 3 или 6 мес.) – после введения высоких доз СТГ: падение содержания ТТГ в крови детей с дефицитом СТГ (возраст 3,5–7,5 года) на 33 % только через 6 мес. лечения, снижение концентрации Т4 на 15, 9 и 8 %, повышение таковой Т3 на 7, 11 и 23 % на фоне увеличения уровня ИФР-1 на 14, 15 и 15 % через 1, 3 и 6 мес., повышение уровня ИФР-1, связанного с IGFBP-3, на 22 и 23 % после 3 и 6 мес. После введения низких доз СТГ:

отсутствие изменения содержания ТТГ, уменьшение концентрации Т4 на 11 % после 1 мес., возрастание уровня Т3 на 5 и 12 % после 3 и 6 мес., повышение уровня ИФР-1 на 9, 13 и 16 % после 1, 3 и 6 мес. и увеличение концентрации ИФР-1, связанного с IGFBP-3, на 19 и 20 % только в последние периоды лечения [28];

введение СТГ (подкожно по 0,183 ± 0,01 мг/кг в неделю в течение 1-го года, по 0,185 ± 0,02 в течение 2-го года, по 0,185 ± 0,02 в течение 3-го года, по 0,194 ± 0,02 в течение 4-го года) – снижение содержания Т4св в сыворотке крови детей и подростков (средний возраст 9,8 ± 3,5 года) с наследственным изолированным дефицитом СТГ после 2-го года лечения, сохраняющимся до конца наблюдения, несмотря на отсутствие существенных колебаний уровня ТТГ. Однако у детей препубертатного возраста его концентрация повышалась на 12 % через 1 год после лечения [29].

II. Парагипофизарно – через активацию продукции β-клетками поджелудочной железы инсулина: дексаметазон (внутримышечно 0,25 мг/кг в течение 7 дней) – увеличение уровня инсулина и проинсулина в крови макак-резус: базального (натощак) (приблизительно в 9 и 2 раза) и индуцированного (через 60 мин после кормления) (примерно в 4 и 2 раза), снижение соотношения проинсулин/инсулин приблизительно в 1,8 и 2,2 раза соответственно [30].

Инсулин и ТТГ стимулируют пролиферацию клеток щитовидной железы. Установлены регуляторные механизмы накопления клеточной массы тироцитов под влиянием указанных факторов с использованием культуры клеток FRTL-5 (из щитовидной железы 3–4-недельных крыс) и, в меньшей степени, PC Cl3 (из щитовидной железы 18-месячных крыс) [31]. В первичных культурах клеток щитовидной железы собак инсулин индуцирует увеличение размеров тироцитов, тогда как ТТГ в присутствии инсулина «запускает» репликацию ДНК. В отсутствие инсулина ТТГ не влияет на рост клеток [32]. Далее было обнаружено, что инсулин и/или ТТГ модулируют рост клеточной массы и синтез ДНК различными способами. В клеточной линии FRTL-5 существуют два пути, которые регулируют увеличение размера тироцитов. Один «запускается» инсулином и чувствителен к ловастатину (блокирует 3-гидрокси-3-метилглутарил коэнзим А-редуктазу, участвующую в функционировании Ras-сигнального пути), другой активируется ТТГ и не чувствителен к ловастатину. Данный вывод был сделан на основании следующих результатов: инсулин (5 мкг/мл) и ТТГ (5 мЕд/мл) добавляли к инкубируемым клеткам (при 37 °С в течение 48 или 6 ч для исследования синтеза белка). В клеточной линии PC Cl3 инсулин активировал синтез ДНК (ауторадиографическое исследование количества меченых [^{3}H] тимидином ядер), а также синтез (включение [^{35}S] метионина) и накопление (по Лоури) белка. ТТГ оказывал аддитивный эффект. Такое же действие регистрировалось после введения форсколина (10 мкмоль/л), активирующего аденилатциклазу и повышающего вследствие этого уровень цАМФ в клетке. В FRTL-5 клетках были обнаружены подобные эффекты. Это свидетельствует о том, что инсулин и ТТГ модулируют как рост клеток, так и репликацию ДНК в них через цАМФ. Ловастатин (5 мкмоль/л) снижает индукцию синтеза ДНК, но не синтеза белка, индуцированного инсулином или ТТГ в клетках PC Cl3, а в клетках FRTL-5 уменьшает синтез белка и ДНК, стимулированный инсулином, но не влияет на синтез белка, индуцированный ТТГ. Таким образом, инсулин и ТТГ способствуют росту клеток линии PCCl3 щитовидной железы крыс, возможно, через путь, отличный от синтеза ДНК [33].

Стимуляция пролиферации тироцитов может происходить и под влиянием ИФР-1, который синтезируется в органах-мишенях под влиянием СТГ [34]. Механизм – активация рецептора, ассоциированного с ферментом протеин-тирозин-киназа, результатом чего является ускорение фосфорилирования некоторых белков и протекания синтетических процессов в тироцитах [35];

Кроме того, для регуляции интенсивности тироксиногенеза под влиянием ТТГ необходим кальций. В тироцитах существуют как минимум три митогенных пути, реализующихся с участием:

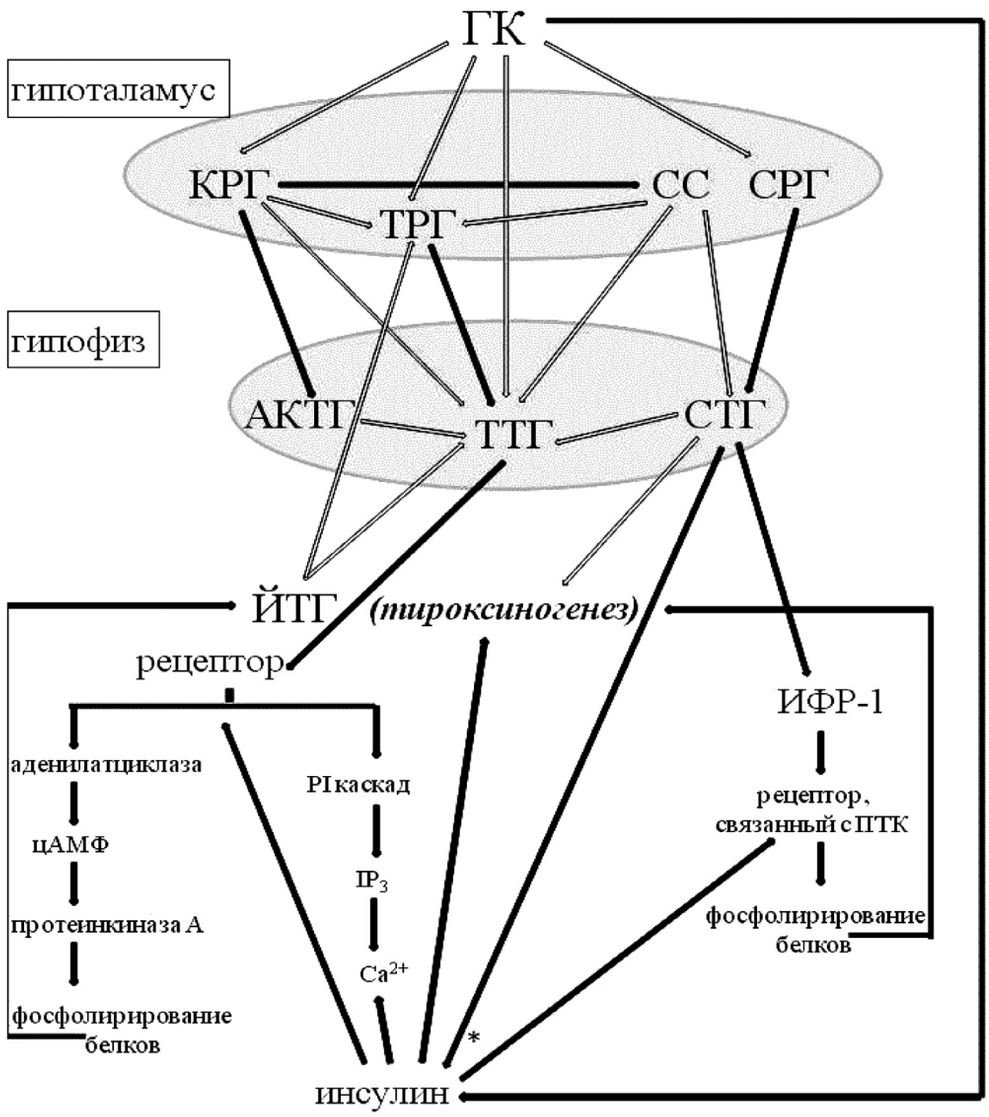
1) протеин-тирозин-киназы (активаторы: фактор роста фибробластов, ИФР-1, эпидермальный фактор роста);

2) протеинкиназы А (активаторы: ТТГ, тироид-стимулирующие иммуноглобулины);

3) протеинкиназы С (активаторы: аденозинтрифосфат, ТТГ, ацетилхолин).

Результаты проведенного нами анализа данных литературных источников о взаимодействии вышеперечисленных механизмов приведены на рисунке.

Кальций принимает участие в реализации эффекта последнего каскада – его инозитолтрифосфат регуляторного контура (компонент Ras-зависимого пути): после связывания указанного иона с кальмодулином активируется фосфодиэстераза циклических нуклеотидов [35], гидролизующая цАМФ. Имеются следующие данные о влиянии инсулина на транспорт указанного иона через клеточную мембрану. Инсулин увеличивает поступление кальция в клетки: инкубация линии клеток инсулиномы мышей MIN6 (концентрация гормона 10 нмоль/л, 30 мин) – индукция транслокации и «включение» одного из предста-



Механизмы влияния глюкокортикоидных гормонов на регуляцию тиреоидной функции. АКТГ – адренокортикотропный гормон; ГК – глюкокортикоиды; ИФР-1 – инсулиноподобный фактор роста-1; ЙТГ – йодсодержащие гормоны щитовидной железы; КРГ – кортикотропин-рилизинг гормон; ПТК – протеин-тирозин-киназа; СПР – саркоплазматический ретикулум; СРГ – соматропин-рилизинг-гормон; СС – соматостатин; СТГ – соматотропный гормон; ТРГ – тиреотропин-рилизинг гормон; ТТГ – тиреотропный гормон; цАМФ – циклический аденозинмонофосфат; IP_3 – инозитолтрифосфат; PI каскад – фосфатидилинозитоловый каскад; ➡ и ⟹ – стимулирующее и ингибирующее влияние соответственно; * – влияние реализуется только в молодом возрасте

Mechanisms of the influence of glucocorticoid hormones on the regulation of the thyroid function. АКТГ – adrenocorticotropic hormone; ГК – glucocorticoids; ИФР-1 – insulin-like growth factor-1; ЙТГ – iodine-containing thyroid hormones; КРГ – corticotropin-releasing hormone; ПТК – protein tyrosine kinase; СПР– sarcoplasmic reticulum; СРГ – somatotropin-releasing hormone; СС – somatostatin; СТГ – growth hormone; ТРГ – thyrotropin-releasing hormone; ТТГ – thyroid-stimulating hormone; цАМФ – cyclic adenosine monophosphate; IP_3 – inositol triphosphate; PI cascade– phosphatidylinositol cascade; ➡ and ⟹ – stimulating and inhibitory effect respectively; * – the influence is realized only at young age

вителей кальциевых каналов – TRPV2 (vanilloid receptor channel) – в плазматическую мембрану. Ингибитор TRPV2 траниласт (75 мкмоль/л) или «нокаутирование» TRPV2 с использованием shRNA (short-hairpin RNA, короткие молекулы РНК, образующие во вторичной структуре «плотные шпильки» – структуры «стебель-петля») устраняют данный эффект. Однако в культуре β-клеток поджелудочной железы (инкубация с 10 нМ раствором в течение 10 мин), полученных от мышей с нокаутом гена специфического рецептора инсулина, расположенного на мембране бета-клеток, такой эффект инсулина отсутствовал [36].

ИФР-1 также увеличивает поступление кальция в клетки через другой тип кальциевых каналов, регулируемых ростовыми факторами (growth factor-regulated channel), относящихся к семейству

TRP-каналов (TRP-channel, transient receptor potential-channel). Исходно они локализуются в основном внутриклеточно, а при стимуляции клеток ИФР-1 транслоцируются к плазматической мембране [37].

С другой стороны, инсулин стимулирует образование инозитолтрифосфата (IP 3) в результате активации фосфолипазы С. После соединения со своим рецептором (IP3R) IP 3 активирует локальное высвобождение кальция из саркоплазматического ретикулума и стимулирует поступление этого иона в митохондрии [38].

В результате изменения тиреоидной функции на всех уровнях под влиянием глюкокортикоидов происходит *сдвиг концентрации ЙТГ в крови*:

гидрокортизон (внутрибрюшинно 10 мг/100 г) – снижение концентрации Т3 и Т4 в крови крыс через 5–60 мин после введения, уровня Т4 после 7-дневного введения в аналогичной дозе [3];

дексаметазон (через пупочную вену 1–5 мкг/г) – отсутствие изменения уровней Т3 и Т4 в крови плодов крыс на 20-й день внутриутробного развития, их увеличение у 5-дневных крысят и снижение содержания Т3 у 12-дневных [10];

дексаметазон (внутримышечно 12 мг на животное в 2 мл раствора NaCl дважды с 24-часовыми интервалами) – снижение концентрации Т4 и Т3, повышение уровня rT3 в крови беременных овец (срок 145 ± 2 дня), повышение содержания Т3 и rT3 у плодов [11].

Заключение. Таким образом, проведенный анализ данных литературы свидетельствует об изменении тиреоидной функции под влиянием глюкокортикоидов за счет влияния на ее регуляцию как транс-, так и парагипофизарно. Введение экзогенных аналогов глюкокортикоидных гормонов изменяет функцию щитовидной железы на всех уровнях: биосинтеза и секреции гормонов, их транспорта, взаимодействия с рецепторами в органах-мишенях, биологического действия, метаболизма и экскреции. Основными механизмами влияния глюкокортикоидов на регуляцию тиреоидной функции являются: ингибирование продукции ТРГ паравентрикулярным ядром гипоталамуса и ТТГ тиреотрофами гипофиза, секреции КРГ, образования СРГ в гипоталамусе и стимуляции продукции СТГ соматотрофами под его влиянием, активация секреции инсулина β-клетками поджелудочной железы.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

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

Acknowledgements. The study was carried out as part of the task of the topic of the State Program of Scientific Research of the Republic of Belarus for 2019–2020 “To study the possibility of increasing the body’s resistance to stress by stimulating the central section of the antistress system and reducing the activity of the stress-implementing system by purposefully correcting the thyroid status (experimental study)”.

Список использованных источников

1. Эндокринные заболевания как медико-социальная проблема современности / Е. В. Кузнецов [и др.] // Современные проблемы науки и образования. – 2017. – № 4. – С. 62.

2. Городецкая, И. В. Влияние йодсодержащих гормонов щитовидной железы на центральный отдел стресс-лимитирующей системы / И. В. Городецкая, Е. А. Гусакова // Вестн. ВГМУ. – 2018. – Т. 17, № 3. – С. 7–15.

3. Влияние глюкокортикоидов на морфологию и функцию щитовидной железы крыс / В. В. Виноградов [и др.] // Вес. Нац. акад. навук Беларусі. Сер. біял. навук. – 2010. – № 3. – С. 87–93.

4. Stress and glucocorticoids increase transthyretin expression in rat choroid plexus via mineralocorticoid and glucocorticoid receptors / A. Martinho [at al.] // J. Mol. Neurosci. – 2012. – Vol. 48, N 1. – P. 1–13. https://doi.org/10.1007/s12031-012-9715-7

5. Sviridov, O. V. Interaction of thyroid hormones with immunoglobulins isolated from human blood serum. I. Parameters of complex formation and the nature of the binding reaction / O. V. Sviridov, M. N. Ermolenko // Biokhimiia. – 1994. – Vol. 59, N 1. – P. 78–87.

6. Immune regulation by glucocorticoids can be linked to cell type-dependent transcriptional responses / L. M. Franco // J. Exp. Med. – 2019. – Vol. 216, N 2. – P. 384–406. https://doi.org/10.1084/jem.20180595

7. Regulation of neuronal thyroid hormone receptor alpha 1 mRNA by hydrocortisone, thyroid hormone and retinoic acid / M. Satyanarayana [et al.] // Dev. Neurosci. – 1994. – Vol. 16, N 5–6. – P. 255–259. https://doi.org/10.1159/000112117

8. Thyroid hormone receptor beta1 gene expression is increased by dexamethasone at transcriptional level in rat liver / M. M. Montesinos [et al.] // Life Sci. – 2006. – Vol. 78, N 22. – P. 2584–2594. https://doi.org/10.1016/j.lfs.2005.10.019

9. Gil-Ibáñez, P. Hormone regulation of gene expression in primary cerebrocortical cells: Role of thyroid hormone receptor subtypes and interactions with retinoic acid and glucocorticoids / P. Gil-Ibáñez, J. Bernal, B. Morte // PLoS ONE. – 2014. – Vol. 9, N 3. – P. 91692. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0091692

10. van der Geyten, S. Developmentally defined regulation of thyroid hormone metabolism by glucocorticoids in the rat / S. van der Geyten, V. M. Darras // J. Endocrinol. – 2005. – Vol. 185, N 2. – P. 327–336. https://doi.org/10.1677/joe.1.05974

11. Differential effects of maternal dexamethasone treatment on circulating thyroid hormone concentrations and tissue deiodinase activity in the pregnant ewe and fetus / A. J. Forhead [et al.] // Endocrinology. – 2007. – Vol. 148, N 2. – P. 800–805. https://doi.org/10.1210/en.2006-1194

12. Regulation of thyroid hormone availability by iodothyronine deiodinases at the blood-brain barrier in birds / C. H. Verhoelst [et al.] // Ann. NY Acad. Sci. – 2005. – Vol. 1040, N 1. – P. 501–503. https://doi.org/10.1196/annals.1327.103

13. Hernandez, A. Dexamethasone inhibits growth factor-induced type 3 deiodinase activity and mRNA expression in a cultured cell line derived from rat neonatal brown fat vascular-stromal cells / A. Hernandez, D. L. Germain // Endocrinology. – 2002. – Vol. 143, N 7. – P. 2652–2658. https://doi.org/10.1210/endo.143.7.8923

14. Kakucska, I. Qi. Changes in adrenal status affect hypothalamic thyrotropin-releasing hormone gene expression in parallel with corticotropin-releasing hormone / I. Qi. Kakucska, R. M. Lechan // Endocrinology. – 1995. – Vol. 136, N 7. – P. 2795–2802. https://doi.org/10.1210/endo.136.7.7789304

15. Glucocorticoids decrease thyrotropin-releasing hormone messenger ribonucleic acid expression in the paraventricular nucleus of the human hypothalamus / A. Alkemade [et al.] // J. Clin. Endocrinol. Metabol. – 2005. – Vol. 90, N 1. – P. 323–327. https://doi.org/10.1210/jc.2004-1430

16. Luo, L. G. Glucocorticoids stimulate thyrotropinreleasing hormone gene expression in cultured hypothalamic neurons / L. G. Luo, T. Bruhn, I. M. Jackson // Endocrinology. – 1995. – Vol. 136, N 11. – P. 4945–4950. https://doi.org/10.1210/endo.136.11.7588228

17. Dexamethasone rapidly regulates TRH mRNA levels in hypothalamic cell cultures: interaction with the cAMP pathway / L. Perez-Martinez [et al.] // Neuroendocrinology. – 1998. – Vol. 68, N 5. – P. 345–354. https://doi.org/10.1159/000054383

18. Benický, J. Effects of dexamethasone on pancreatic growth and thyroliberin (TRH) content in neonatal rat pancreas / J. Benický, V. Strbák // Physiol. Res. – 1995. – Vol. 44, N 3. – P. 165–172.

19. Dexamethasone treatment during pregnancy influences the number of TSH cells in rat fetuses / M. Manojlovic-Stojanoski [et al.] // Arch. Biol. Sci. – 2009. – Vol. 60, N 4. – P. 555–560. https://doi.org/10.2298/ABS0804555M

20. Dynamic changes of central thyroid functions in the management of Cushing's syndrome / S. C. Dogansen [et al.] // Arch. Endocrinol. Metab. – 2018. – Vol. 62, N 2. – P. 164–171. http://dx.doi.org/10.20945/2359-3997000000019

21. Diminished and irregular TSH secretion with delayed acrophase in patients with Cushing's syndrome / F. Roelfsema [et al.] // Eur. J. Endocrinol. – 2009. – Vol. 161, N 5. – P. 695–703. https://doi.org/10.1530/EJE-09-0580

22. Primary thyroid disorders in endogenous Cushing's syndrome / H. Niepomniszcze [et al.] // Eur. J. Endocrinol. – 2002. – Vol. 147, N 3. – P. 305–311. https://doi.org/10.1530/eje.0.1470305

23. Thyroid dysfunction in isolated adrenocorticotropic hormone (ACTH) deficiency: case report and literature review / T. Murakami [et al.] // Endocrinol. J. – 1993. – Vol. 40, N 4. – P. 473–478. https://doi.org/10.1507/endocrj.40.473

24. Tsigos, C. Hypothalamic-pituitary-adrenal axis, neuroendocrine factors and stress / C. Tsigos, G. P. Chrousos // J. Psychosom Res. – 2002. – Vol. 53, N 4. – P. 865–871. https://doi.org/10.1016/s0022-3999(02)00429-4

25. Giustina, A. The role of glucocorticoids in the regulation of growth hormone secretion. Mechanisms and clinical significance / A. Giustina, W. B. Wehrenberg // Trends Endocrinol. Metabol. – 1992. – Vol. 3, N 8. – P. 306–311. https://doi.org/10.1016/1043-2760(92)90142-N

26. Thyroid function in children with growth hormone (GH) deficiency during the initial phase of GH replacement therapy – clinical implications / J. Smyczynska [at al.] // Thyroid Res. – 2010. – Vol. 3, N 1. – P. 2. https://doi.org/10.1186/1756-6614-3-2

27. Keskin, M. Effects of 1-year growth hormone replacement therapy on thyroid volume and function of the children and adolescents with idiopathic growth hormone deficiency / M. Keskin, E. Bayramoglu, Z. Aycan // J. Pediatr. Endocrinol. Metab. – 2017. – Vol. 30, N 11. – P. 1187– 1190. https://doi.org/10.1515/jpem-2017-0210

28. An examination of the effects of different doses of recombinant human growth hormone on children with growth hormone deficiency / Y. Xue [et al.] // Exp. Ther. Med. – 2016. – Vol. 11, N 5. – P. 1647–1652. https://doi.org/10.3892/etm.2016.3091

29. Thyroid function in children with growth hormone deficiency during long-term growth hormone replacement therapy / E. Witkowska-Sędek [et al.] // Cent. Eur. J. Immunol. – 2018. – Vol. 43, N 3. – P. 255–261. https://doi.org/10.5114/ceji.2018.80043

30. Investigation of the mechanisms contributing to the compensatory increase in insulin secretion during dexamethasone-induced insulin resistance in rhesus macaques / B. P. Cummings [et al.] // J. Endocrinol. – 2013. – Vol. 216, N 2. – P. 207–215. https://doi.org/10.1530/JOE-12-0459

31. Somatostatin inhibits PC Cl3 thyroid cell proliferation through the modulation of phosphotyrosine phosphatase activity / T. Florio [et al.] // J. Biol. Chem. – 1996. – Vol. 271, N 11. – P. 6129–6136. https://doi.org/10.1074/jbc.271.11.6129

32. Taton, M. Dissociation of the stimuli for cell hypertrophy and cell division in the dog thyrocyte: insulin promotes protein accumulation while TSH triggers DNA synthesis / M. Taton, J. E. Dumont // Exp. Cell Res. – 1995. – Vol. 221, N 2. – P. 530–533. https://doi.org/10.1006/excr.1995.1405

33. Insulin and TSH promote growth in size of PC Cl3 rat thyroid cells, possibly via a pathway different from DNA synthesis: comparison with FRTL-5 cells / T. Kimura [et al.] // Eur. J. Endocrinol. – 1999. – Vol. 140, N 1. – P. 94–103. https://doi.org/10.1530/eje.0.1400094

34. Roelfsema, V. The growth hormone and insulin-like growth factor axis: its manipulation for the benefit of growth disorders in renal failure / V. Roelfsema, R. G. Clark // J. Am. Soc. Nephrol. – 2001. – Vol. 12, N 6. – P. 1297–1300.

35. Physiological and pathological regulation of thyroid cell proliferation and differentiation by thyrotropin and other factors / J. E. Dumont [et al.] // Physiol Rev. – 1992. – Vol. 72, N 3. – P. 667–697. https://doi.org/10.1152/physrev.1992.72.3.667

36. Regulation of calcium-permeable TRPV2 channel by insulin in pancreatic-cells / E. Hisanaga [et al.] // Diabetes. – 2009. – Vol. 58, N 1. – P. 174–184. https://doi.org/10.2337/db08-0862

37. Translocation of a calcium-permeable cation channel induced by insulin-like growth factor-I / M. Kanzaki [et al.] // Nat. Cell Biol. – 1999. – Vol. 1, N 3. – P. 165–170. https://doi.org/10.1038/11086

38. Insulin elicits a ROS-activated and an IP3-dependent Ca^{2+} release, which both impinge on GLUT4 translocation / A. Contreras-Ferrat [et al.] // J. Cell Sci. – 2014. – Vol. 127, N 9. – P. 1911–1923. https://doi.org/10.1242/jcs.138982

References

1. Kuznetsov E. V., Zhukova L. A., Pakhomova E. A., Gulamov A. A. Endocrine diseases as a medical-social problem of modernity. *Sovremennye problem nauki i obrazovaniya* [Modern problems of science and education], 2017, no. 4, p. 62 (in Russian).

2. Gorodetskaya I. V., Gusakova E. A. The effect of iodine-containing thyroid hormones on the central part of the stress-limiting system. *Vestnik Vitebskogo gosudarstvennogo meditsinskogo universiteta* [Bulletin of Vitebsk State Medical University], 2018, vol. 17, no. 3, pp. 7–15 (in Russian).

3. Vinogradov V. V., Golyshko P. V., Tumanov A. V., Andreev V. P., Nadol'nik L. I., Yarotskii Yu. V. The effect of glucocorticoids on the morphology and function of the thyroid gland of rats]. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya biyalagichnykh navuk= Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2010, no. 3, pp. 87–93 (in Russian).

4. Martinho A., Gonçalves I., Costa M., Santos C. R. Stress and glucocorticoids increase transthyretin expression in rat choroid plexus via mineralocorticoid and glucocorticoid receptors. *Journal of Molecular Neuroscience*, 2012, vol. 48, no. 1, pp. 1–13. https://doi.org/10.1007/s12031-012-9715-7

5. Sviridov O. V., Ermolenko M. N. Interaction of thyroid hormones with immunoglobulins isolated from human blood serum. I. Parameters of complex formation and the nature of the binding reaction. *Biokhimiia*, 1994, vol. 59, no. 1, pp. 78–87.

6. Franco L. M., Gadkari M., How K. N., Sun J., Kardava L., Kumar P. [et al.]. Immune regulation by glucocorticoids can be linked to cell type-dependent transcriptional responses. *Journal of Experimental Medicine*, 2019, vol. 216, no. 2. pp. 384–406. https://doi.org/10.1084/jem.20180595

7. Satyanarayana M., Sarvesh A., Khadeer M. A., Ved H. S., Soprano D. R., Rajeswari M. R., Pieringer R. A. Regulation of neuronal thyroid hormone receptor alpha 1 mRNA by hydrocortisone, thyroid hormone and retinoic acid. *Developmental Neuroscience*, 1994, vol. 16, no. 5–6, pp. 255–259. https://doi.org/10.1159/000112117

8. Montesinos M. M., Pellizas C. G., Vélez M. L., Susperreguy S., Masini-Repiso A. M., Coleoni A. H. Thyroid hormone receptor beta1 gene expression is increased by Dexamethasone at transcriptional level in rat liver. *Life Science*, 2006, vol. 78, no. 22, pp. 2584–2594. https://doi.org/10.1016/j.lfs.2005.10.019

9. Gil-Ibáñez P., Bernal J., Morte B. Hormone regulation of gene expression in primary cerebrocortical cells: Role of thyroid hormone receptor subtypes and interactions with retinoic acid and glucocorticoids. *Public Library of Science One*, 2014, vol. 9, no. 3, p. 91692. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0091692

10. van der Geyten S., Darras V. M. Developmentally defined regulation of thyroid hormone metabolism by glucocorticoids in the rat. *Journal of Endocrinology*, 2005, vol. 185, no. 2, pp. 327–336. https://doi.org/10.1677/joe.1.05974

11. Forhead A. J., Jellyman J. K., Gardner D. S., Giussani D. A., Kaptein E., Visser T. J., Fowden A. L. Differential effects of maternal dexamethasone treatment on circulating thyroid hormone concentrations and tissue deiodinase activity in the pregnant ewe and fetus. *Endocrinology*, 2007, vol. 148, no. 2, pp. 800–805. https://doi.org/10.1210/en.2006-1194

12. Verhoelst C. H., van der Geyten S., Roelens S. A., Darras V. M. Regulation of thyroid hormone availability by iodothyronine deiodinases at the blood-brain barrier in birds. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 2005, vol. 1040, no. 1, pp. 501–503. https://doi.org/10.1196/annals.1327.103

13. Hernandez A., Germain D. L. Dexamethasone inhibits growth factor-induced type 3 deiodinase activity and mRNA expression in a cultured cell line derived from rat neonatal brown fat vascular-stromal cells. *Endocrinology*, 2002, vol. 143, no. 7, pp. 2652–2658. https://doi.org/10.1210/endo.143.7.8923

14. Kakucska I. Qi., Lechan R. M. Changes in adrenal status affect hypothalamic thyrotropin-releasing hormone gene expression in parallel with corticotropin-releasing hormone. *Endocrinology*, 1995, vol. 136, no. 7, pp. 2795–2802. https://doi.org/10.1210/endo.136.7.7789304

15. Alkemade A., Unmehopa U. A., Wiersinga W. M., Swaab D. F., Fliers E. Glucocorticoids decrease thyrotropin-releasing hormone messenger ribonucleic acid expression in the paraventricular nucleus of the human hypothalamus. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 2005, vol. 90, no. 1, pp. 323–327. https://doi.org/10.1210/jc.2004-1430

16. Luo L. G., Bruhn T., Jackson I. M. Glucocorticoids stimulate thyrotropinreleasing hormone gene expression in cultured hypothalamic neurons. *Endocrinology*, 1995, vol. 136, no. 11, pp. 4945–4950. https://doi.org/10.1210/endo.136.11.7588228

17. Pérez-Martínez L., Carreón-Rodríguez A., González-Alzati M. E., Morales C., Charli J. L., Joseph-Bravo P. Dexamethasone rapidly regulates TRH mRNA levels in hypothalamic cell cultures: interaction with the cAMP pathway. *Neuroendocrinology*, 1998, vol. 68, no. 5, pp. 345–354. https://doi.org/10.1159/000054383

18. Benický J., Strbák V. Effects of dexamethasone on pancreatic growth and thyroliberin (TRH) content in neonatal rat pancreas. *Physiological Research,* 1995, vol. 44, no. 3, pp. 165–172.

19. Manojlovic-Stojanoski M., Nestorović N., Trifunovic S., Šošić-Jurjević B., Milošević V., Sekulić M., Trifunović S., Negić N. Dexamethasone treatment during pregnancy influences the number of TSH cells in rat fetuses. *Archives Biological Sciences,* 2009, vol. 60, no. 4, pp. 555–560. https://doi.org/10.2298/ABS0804555M

20. Dogansen S. C., Yalin G. Y., Canbaz B., Tanrikulu S., Yarman S. Dynamic changes of central thyroid functions in the management of Cushing's syndrome. *Archives of Endocrinology and Metabolism,* 2018, vol. 62, no. 2, pp. 164–171. http://dx.doi.org/10.20945/2359-3997000000019

21. Roelfsema F., Pereira A. M., Biermasz N. R., Frolich M., Keenan D. M., Veldhuis J. D., Romijn J. A. Diminished and irregular TSH secretion with delayed acrophase in patients with Cushing's syndrome. *European Journal of Endocrinology*, 2009, vol. 161, no. 5, pp. 695–703. https://doi.org/10.1530/EJE-09-0580

22. Niepomniszcze H., Pitoia F., Katz S. B., Chervin R., Bruno O. D. Primary thyroid disorders in endogenous Cushing's syndrome. *European Journal of Endocrinology*, 2002, vol. 147, no. 3, pp. 305–311. https://doi.org/10.1530/eje.0.1470305

23. Murakami T., Wada S., Katayama Y., Nemoto Y., Kugai N., Nagata N. Thyroid dysfunction in isolated adrenocorticotropic hormone (ACTH) deficiency: case report and literature review. *Endocrine Journal*, 1993, vol. 40, no. 4, pp. 473–478. https://doi.org/10.1507/endocrj.40.473

24. Tsigos C., Chrousos G. P. Hypothalamic-pituitary-adrenal axis, neuroendocrine factors and stress. *Journal of Psychosomatic Research*, 2002, vol. 53, no. 4, pp. 865–871. https://doi.org/10.1016/s0022-3999(02)00429-4

25. Giustina A., Wehrenberg W. B. The role of glucocorticoids in the regulation of growth hormone secretion. Mechanisms and clinical significance. *Trends in Endocrinology and Metabolism,* 1992, vol. 3, no. 8, pp. 306–311. https://doi.org/10.1016/1043-2760(92)90142-N

26. Smyczynska J., Hilczer M., Stawerska R., Lewinski A. Thyroid function in children with growth hormone (GH) deficiency during the initial phase of GH replacement therapy – clinical implications. *Thyroid Research*, 2010, vol. 3, no. 1, p. 2. https://doi.org/10.1186/1756-6614-3-2

27. Keskin M., Bayramoglu E., Aycan Z. Effects of 1-year growth hormone replacement therapy on thyroid volume and function of the children and adolescents with idiopathic growth hormone deficiency. *Journal of Pediatric Endocrinology & Metabolism*, 2017, vol. 30, no. 11, pp. 1187–1190. https://doi.org/10.1515/jpem-2017-0210

28. Xue Y., Gao Y., Wang S., Wang P. An examination of the effects of different doses of recombinant human growth hormone on children with growth hormone deficiency. *Experimental and Therapeutic Medicine*, 2016, no. 11, pp. 1647–1652. https://doi.org/10.3892/etm.2016.3091

29. Witkowska-Sędek E., Borowiec A., Majcher A., Sobol M., Rumińska M., Pyrżak B. Thyroid function in children with growth hormone deficiency during long-term growth hormone replacement therapy. *Central-European Journal of Immunology*, 2018, vol. 43, no. 3, pp. 255–261. https://doi.org/10.5114/ceji.2018.80043

30. Cummings B. P., Bremer A. A., Kieffer T. J., D'Alessio D., Havel P. J. Investigation of the mechanisms contributing to the compensatory increase in insulin secretion during dexamethasone-induced insulin resistance in rhesus macaques. *Journal of Endocrinology*, 2013, vol. 216, no. 2, pp. 207–215. https://doi.org/10.1530/JOE-12-0459

31. Florio T., Scorizello A., Fattore M., D'Alto V., Salzano S., Rossi G., Berlingieri M. T., Fusco A., Schettini G. Somatostatin inhibits PC Cl3 thyroid cell proliferation through the modulation of phosphotyrosine phosphatase activity. *Journal of Biological Chemistry*, 1996, vol. 271, no. 11, pp. 6129–6136. https://doi.org/10.1074/jbc.271.11.6129

32. Taton M., Dumont J. E. Dissociation of the stimuli for cell hypertrophy and cell division in the dog thyrocyte: insulin promotes protein accumulation while TSH triggers DNA synthesis. *Experimental Cell Research*, 1995, vol. 221, no. 2, pp. 530–533. https://doi.org/10.1006/excr.1995.1405

33. Kimura T., Dumont J. E., Fusco A., Golstein J. Insulin and TSH promote growth in size of PC Cl3 rat thyroid cells, possibly via a pathway different from DNA synthesis: comparison with FRTL-5 cells. *European Journal of Endocrinology*, 1999, vol. 140, no. 1, pp. 94–103. https://doi.org/10.1530/eje.0.1400094

34. Roelfsema V., Clark R. G. The growth hormone and insulin-like growth factor axis: its manipulation for the benefit of growth disorders in renal failure. *Journal of the American Society of Nephrology*, 2001, vol. 12, no. 6, pp. 1297–1300.

35. Dumont J. E., Lamy F., Roger P., Maenhaut C. Physiological and pathological regulation of thyroid cell proliferation and differentiation by thyrotropin and other factors. *Physiological Reviews*, 1992, vol. 72, no. 3, pp. 667–697. https://doi.org/10.1152/physrev.1992.72.3.667

36. Hisanaga E., Nagasawa M., Ueki K., Kulkarni R. N., Mori M., Kojima I. Regulation of calcium-permeable TRPV2 channel by insulin in pancreatic-cells. *Diabetes*, 2009, vol. 58, no. 1, pp. 174–184. https://doi.org/10.2337/db08-0862

37. Kanzaki M., Zhang Y. Q., Mashima H., Li L., Shibata H., Kojima I. Translocation of a calcium-permeable cation channel induced by insulin-like growth factor-I. *Nature Cell Biology*, 1999, vol. 1, no. 3, pp. 165–170. https://doi.org/10.1038/11086

38. Contreras-Ferrat A., Llanos P., Vásquez C., Espinosa A., Osorio-Fuentealba C., Arias-Calderon M., Lavandero S., Klip A., Hidalgo C., Jaimovich E. Insulin elicits a ROS-activated and an IP3-dependent Ca^{2+} release, which both impinge on GLUT4 translocation. *Journal of Cell Science*, 2014, vol. 127, no. 9, pp. 1911–1923. https://doi.org/10.1242/jcs.138982

Информация об авторах

Гусакова Елена Анатольевна – канд. биол. наук, доцент. Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет (пр. Фрунзе, 27, 210017, г. Витебск, Республика Беларусь). E-mail: elena-gusakova83@mail.ru, https://orcid.org/0000-0001-9150-5685

Городецкая Ирина Владимировна – д-р мед. наук, профессор, декан. Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет (пр. Фрунзе, 27, 210017, г. Витебск, Республика Беларусь). E-mail: gorodeckaya-iv@mail.ru, https://orcid.org/0000-0002-7388-4244

Information about the authors

Elena A. Gusakova – Ph. D. (Biol.), Associate Professor. Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University (27, Frunze Ave., 210017, Vitebsk, Republic of Belarus). E-mail: elena-gusakova83@mail.ru, https://orcid.org/0000-0001-9150-5685

Irina V. Gorodetskaya – D. Sc. (Med.), Professor, Dean. Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University (27, Frunze Ave., 210017, Vitebsk, Republic of Belarus). E-mail: gorodeckaya-iv@mail.ru, https://orcid.org/0000-0002-7388-4244

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

ВУЧОНЫЯ БЕЛАРУСІ

SCIENTISTS OF BELARUS

АЛЕКСАНДР ВАСИЛЬЕВИЧ СУКАЛО

(К 70-летию со дня рождения)



В феврале 2021 г. исполнилось 70 лет со дня рождения академика НАН Беларуси, доктора медицинских наук, профессора, заслуженного деятеля науки Республики Беларусь, заведующего 1-й кафедрой детских болезней Белорусского государственного медицинского университета Александра Васильевича Сукало.

А. В. Сукало родился в г. Рогачеве в семье служащего. С отличием в 1975 г. окончил педиатрический факультет Минского государственного медицинского института (МГМИ), где за годы обучения был именным стипендиатом, активно участвовал в общественной работе комсомольской организации института, избирался ее секретарем в 1975–1978 гг. Был членом партийного бюро педиатрического факультета и института. В 1970–1980-е годы принимал активное участие в движении студенческих строительных отрядов в качестве бойца, командира и комиссара. Занимался в научно-студенческом кружке на кафедре детской хирургии, а затем на кафедре факультетской педиатрии, участвовал в художественной самодеятельности учреждения.

После окончания института Александр Васильевич работал врачом-педиатром в УЗ «2-я ДКБ» г. Минска (1975–1978 гг.). В 1981 г. после окончания аспирантуры продолжил профессиональную деятельность на 1-й кафедре детских болезней МГМИ ассистентом, доцентом (1989), совмещая ее с обязанностями декана педиатрического факультета (1988–1997 гг.), а затем проректора по учебной и воспитательной работе (1998–2001 гг.). Основным направлением его научно-исследовательской деятельности стали проблемы детской нефрологии. Пути решения и преодоления этих проблем отражены в диссертационных работах «Клинико-иммунологическая характеристика и профилактика рецидивов гломерулонефрита у детей» на соискание ученой степени кандидата медицинских наук (1982) и «Первичный гломерулонефрит у детей Беларуси в современных экологических условиях (клинико-экспериментальное исследование)» на соискание ученой степени доктора медицинских наук (1995).

В 1994 г. Александр Васильевич Сукало избран заведующим 1-й кафедры детских болезней МГМИ, которую возглавляет по настоящее время в структуре Белорусского государственного медицинского университета (БГМУ). В 1996 г. ему присвоено звание профессора, в 2009 г. избран членом-корреспондентом НАН Беларуси, в 2014 г. – действительным членом (академиком) НАН Беларуси. В 01.08.2012 г. по Указу Президента Республики Беларусь А. Г. Лукашенко он назначен заместителем Председателя Президиума НАН Беларуси, где курировал вопросы социальной сферы, выставочную деятельность, научно-техническое сотрудничество с Китаем и Казахстаном, координировал научные исследования в отделении медицинских наук и отделении химии и наук о Земле до 2019 г.

Александр Васильевич Сукало – известный ученый и исследователь в области педиатрии, детской нефрологии и экопаталогии, иммунологии детского возраста, опытный организатор и талантливый педагог. За последние 10 лет под его руководством успешно выполнено 20 заданий в государственных программах научных исследований, а также в программах государственных

и отраслевых научно-технических и Белорусского фонда фундаментальных исследований и инновационных проектов. Результаты научных исследований опубликованы более чем в 750 работах, в том числе в 4 монографиях, 11 справочниках, более чем 40 учебных и учебно-методических пособиях, инструкциях, методических рекомендациях, в том числе в таких научных изданиях, как “Clinical immunology” и “Pediatrics”.

Ежегодно А. В. Сукало представляет научные доклады на международных конгрессах и конференциях, республиканских съездах и семинарах по актуальным проблемам клинической медицины и современной педиатрии. Под его руководством выполнены и защищены 23 кандидатские и 6 докторских диссертаций. Он успешно сочетает научно-педагогическую и лечебную работу с организационной и общественной деятельностью. В 1997 г. по инициативе и при непосредственном его участии создан Республиканский центр детской нефрологии и почечной заместительной терапии, в практическую работу которого с 2005 г. внедрен метод перитонеального диализа, с 2009 г. – трансплантация почек детям.

Александр Васильевич является членом бюро Отделения медицинских наук и Ученого Медицинского Совета Министерства здравоохранения Республики Беларусь, главным редактором журнала «Педиатрия. Восточная Европа», членом редакционных коллегий журналов «Весці НАН Беларусі. Серыя медыцынскіх навук», «Медицинский журнал», «Охрана материнства и детства», «Нефрология» (Российская Федерация), редакционного совета журнала «Здравоохранение», рецензентом ежегодника «Экологическая антропология», членом Совета БГМУ и Совета педиатрического факультета, долгие годы был председателем Государственного экспертного Совета по здравоохранению ГКНТ.

Его плодотворная научно-педагогическая, врачебная и общественная деятельность в Республике Беларусь оценена по достоинству, о чем свидетельствуют многочисленные награды: орден Почета (2016), медаль «За трудовые заслуги» (2007), нагрудный знак отличия имени В. М. Игнатовского НАН Беларуси (2018), нагрудный знак «Залаты медаль Нацыянальнай акадэміі навук Беларусі «За вялікі ўклад у развіццё навукі» (2019), нагрудный знак «Отличник здравоохранения» (2012), орден святителя Кирилла Туровского II степени (2011), орден Евфросиньи Полоцкой (2013), Почетная грамота Комитета по здравоохранению Мингорисполкома (2009), Почетная грамота Министерства здравоохранения Беларуси (2011), почетные грамоты НАН Беларуси (2011, 2016), почетные грамоты ВАК Беларуси (2011, 2016), Почетная грамота Национальной Государственной телерадиокомпании Республики Беларусь (2011), а также почетное звание «Заслуженный деятель науки Республики Беларусь» (2002).

Для своих коллег, сотрудников и учеников Александр Васильевич Сукало является примером высочайшего профессионализма, хранителем научных традиций, символом жизненного успеха.

Отделение медицинских наук НАН Беларуси