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

ВЕСЦІ
НАЦЫЯНАЛЬНАЙ АКАДЭМІІ НАВУК БЕЛАРУСІ

СЕРЫЯ МЕДЫЦЫНСКІХ НАВУК. 2023. Т. 20, № 4

ИЗВЕСТИЯ
НАЦИОНАЛЬНОЙ АКАДЕМИИ НАУК БЕЛАРУСИ

СЕРИЯ МЕДИЦИНСКИХ НАУК. 2023. Т. 20, № 4

Журнал основан в 2004 г.

Выходит четыре раза в год

Учредитель – Национальная академия наук Беларуси

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

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

Василий Генрихович Богдан –
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
Н. П. Канунникова – Гродненский государственный университет имени Янки Купалы, Гродно, 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
А. Г. Мойсеёнок – Институт биохимии биологически активных соединений Национальной академии наук Беларуси, Гродно, Республика Беларусь
С. П. Рубникович – Белорусский государственный медицинский университет, 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
Л. П. Титов – Республиканский научно-практический центр эпидемиологии и микробиологии, 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 – Центр мозга Института 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
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. 2023. Т. 20, № 4
Выходит на русском, белорусском и английском языках

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

Подписано в печать 03.11.2023. Выход в свет 28.11.2023. Формат 60×84 $^1/_8$. Бумага офсетная.
Печать цифровая. Усл. печ. л. 10,23. Уч.-изд. л. 11,3. Тираж 42 экз. Заказ 245.
Цена номера: индивидуальная подписка – 12,80 руб., ведомственная подписка – 29,91 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, 220084, г. Минск, Республика Беларусь

© РУП «Издательский дом «Беларуская навука»,
Весці Нацыянальнай акадэміі навук Беларусі. Серыя медыцынскіх навук, 2023

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

PROCEEDINGS
OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF BELARUS

MEDICAL SERIES, 2023, vol. 20, no. 4

The Journal was founded in 2004

Issued four times a year

Founder is the National Academy of Sciences of Belarus

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

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

Editor-in-Chief

Vasily G. Bogdan –
Department of Medical Sciences of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus

Editorial Board

Oleg O. Rummo (*Associate Editor-in-Chief*) – Minsk Scientific-Practical Center of Surgery, Transplantation and Hematology, Minsk, Republic of Belarus
Valentina G. Kolosovskaya (*Managing Editor*)
Yulia E. Eremenko – Republican Center for Research and Practice in Otolaryngology, Minsk, Republic of Belarus
Mikhail A. Gerasimenko – Republican Scientific-Practical Center of Traumatology and Orthopedics, Minsk, Republic of Belarus
Gennady L. Gurevich – Republican Scientific and Practical Center of Pulmonology and Tuberculosis, Minsk, Republic of Belarus
Siarhei V. Hubkin – Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus
Sergey L. Kabak – Belarusian State Medical University, Minsk, Republic of Belarus
Nina P. Kanunnikova – Yanka Kupala State University of Grodno, Grodno, Republic of Belarus
Siarhei 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
Andrey G. Moiseenok – Institute of Biochemistry of Biologically Active Compounds of the National Academy of Sciences of Belarus, Grodno, Republic of Belarus
Sergey P. Rubnikovich – Belarusian State Medical University, Minsk, Republic of Belarus
Ryszard R. Sidorovich – Republican Research and Practical Center of Neurology and Neurosurgery, Minsk, Republic of Belarus
Alexander V. Strotsky – Belarusian State Medical University, Minsk, Republic of Belarus

Leonid P. Titov – Republican Scientific and Practical Center for Epidemiology and Microbiology, 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 – Brain Centre of the 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
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, 2023, vol. 20, no. 4.

Printed in Russian, Belarusian and English languages

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

It is sent of the press 03.11.2023. Appearance 28.11.2023. Format 60×84 $^{1}/_{8}$. Offset paper. The press digital.
Printed pages 10.23. Publisher's signatures 11.3. Circulation 42 copies. Order 245.
Number price: individual subscription – 12.80 byn., departmental subscription – 29.91 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, 220084, Republic of Belarus.

© RUE "Publishing House "Belaruskaya Navuka",
Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series, 2023

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

ЗМЕСТ

КЛІНІЧНАЯ І ЭКСПЕРЫМЕНТАЛЬНАЯ МЕДЫЦЫНА

Богдан В. Г., Сердюченко Н. С., Гнедько Т. В. История создания, развития и достижений Отделения медицинских наук (К 95-летию со дня основания Национальной академии наук Беларуси) 271

Карпук Н. А., Рубникович С. П., Жильцов И. В., Мазур О. Ч., Карпук И. Ю., Михаленко Е. П. Анализ взаимосвязи соматических мутаций с формированием лейкоплакии и плоскоклеточного рака слизистой оболочки ротовой полости 278

Герасименко М. А., Мазуренко А. Н., Макаревич С. В., Ремов П. С., Косцов М. А. Использование программного комплекса Scales при планировании тактики хирургического лечения пациентов с дегенеративным спондилолистезом поясничных позвонков 289

Федулов А. С., Зафранская М. М., Борисов А. В., Нижегородова Д. Б., Волкова Н. А., Кривенко С. И., Шалухо Т. А. Влияние терапии, изменяющей клиническое течение рассеянного склероза с использованием пересадки аллогенных мезенхимальных стволовых клеток, на иммунологические показатели пациентов 299

Букач Д. В., Эйсмонт О. Л., Потапнев М. П., Асаевич В. И., Лицкевич П. В., Карпенко Ф. Н., Кривенко С. И., Богдан В. Г., Усов В. В., Хахелько К. Е. Использование аутологичной плазмы, обогащенной растворимыми факторами тромбоцитов, в симптоматической терапии остеоартрита коленного сустава 308

Ильясевич И. А., Сошникова Е. В., Тесаков Д. К., Кульчицкий В. А., Хомушко И. С. Нейрофизиологический подход в оценке функций спинного мозга при кифотической деформации позвоночника 316

Ярец Ю. И., Славников И. А. Обоснование тактики лечения хронических ран на различных стадиях инфекционного процесса на основании анализа результатов микробиологических и клинико-морфологических параметров 326

Якубцевич Р. Э., Лемеш А. В., Павлюковец А. Ю., Николаева И. В., Дорошенко Е. М., Головейко С. А. Влияние антибактериальных препаратов группы карбапенемов на состав пристеночной микрофлоры толстого кишечника и фонд свободных аминокислот плазмы крови интактных крыс 340

Джаркенов Т. А., Заирова С. Т., Саханова С. К. Распределение частот полиморфизмов четырех генов цитокинов в здоровой популяции Западного Казахстана (*на англ. яз.*) 347

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

CONTENTS

CLINICAL AND EXPERIMENTAL MEDICINE

Bogdan V. G., Serdyuchenko N. S., Gnedko T. V. History of the creation, development and achievements of the Department of medical sciences (To the 90th anniversary of the foundation of the National Academy of Sciences of Belarus)..... 271

Karpuk N. A., Rubnikovich S. P., Zhyltsou I. V., Mazur O. C., Karpuk I. Yu., Mikhalenka A. P. Analysis of the relationship of somatic mutations with the development of leukoplakia and squamous cell carcinoma of the oral mucosa 278

Gerasimenko M. A., Mazurenko A. N., Makarevich S. V., Remov P. S., Kostsov M. A. Use of the Scales software complex in planning the surgical treatment of patients with lumbar degenerative spondylolisthesis 289

Fedulov A. S., Zafranskaya M. M., Borisov A. V., Nizhegorodova D. B., Volkova N. A., Krivenko S. I., Shalukho T. A. Impact of the therapy that changes the clinical course of multiple sclerosis using allogeneic mesenchymal stem cell transplantation on the immunological parameters of patients..... 299

Bukach D. V., Eismont O. L., Potapnev M. P., Asaevich V. I., Litskevich P. V., Karpenko F. N., Krivenko S. I., Bogdan V. G., Vusau V. V., Hahelko K. E. Use of autologous platelet-rich plasma in knee osteoarthritis symptomatic treatment..... 308

Ilyasevich I. A., Soshnikova E. V., Tesakov D. K., Kulchitsky V. A., Khomushka I. S. Neurophysiological approach to the assessment of spinal cord function in kyphotic spinal deformity..... 316

Yarets Yu. I., Slavnikov I. A. Substantiation of tactics of chronic wound bed preparation at various stages of the infectious process on the basis of the analysis of the results of microbiological, clinical and morphological parameters 326

Yakubtsevich R. E., Lemesh A. V., Pavlyukovets A. Yu., Nikolaeva I. V., Doroshenko E. M., Goloveyko S. A. Effect of antibacterial drugs of the carbapenem group on the composition of the parietal microflora of the large intestine and the pool of free amino acids in the blood plasma of intact rats..... 340

Jarkenov T. A., Zairova S. T., Sakhanova S. K. Frequency distribution of four cytokine gene polymorphisms in healthy Western Kazakhstan population 347

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

КЛІНІЧНАЯ І ЭКСПЕРЫМЕНТАЛЬНАЯ МЕДЫЦЫНА

CLINICAL AND EXPERIMENTAL MEDICINE

УДК 001.32 (476)(091)
https://doi.org/10.29235/1814-6023-2023-20-4-271-277

Поступила в редакцию 02.10.2023
Received 02.10.2023

В. Г. Богдан, Н. С. Сердюченко, Т. В. Гнедько

ИСТОРИЯ СОЗДАНИЯ, РАЗВИТИЯ И ДОСТИЖЕНИЙ ОТДЕЛЕНИЯ МЕДИЦИНСКИХ НАУК (К 95-ЛЕТИЮ СО ДНЯ ОСНОВАНИЯ НАЦИОНАЛЬНОЙ АКАДЕМИИ НАУК БЕЛАРУСИ)

Национальная академия наук Беларуси, Минск, Республика Беларусь

Аннотация. Проведен анализ исторических документов и фактов, научных публикаций и информационных материалов о создании Отделения медицинских наук в структуре НАН Беларуси, основных этапах развития фундаментальных и прикладных исследований в научных организациях, достижениях отечественных ученых-медиков и результатах деятельности в области медицины. Определены перспективные направления совершенствования и инновационного развития академической медицинской науки с формированием интеграционных платформ междисциплинарного и межведомственного взаимодействия.

Ключевые слова: медицинская наука, результаты исследования, достижения, перспективы

Для цитирования: Богдан, В. Г. История создания, развития и достижений Отделения медицинских наук (К 95-летию со дня основания Национальной академии наук Беларуси) / В. Г. Богдан, Н. С. Сердюченко, Т. В. Гнедько // Вес. Нац. акад. навук Беларусі. Сер. мед. навук. – 2023. – Т. 20, № 4. – С. 271–277. https://doi.org/10.29235/1814-6023-2023-20-4-271-277

Vasily G. Bogdan, Nikolay S. Serdyuchenko, Tatyana V. Gnedko

HISTORY OF THE CREATION, DEVELOPMENT AND ACHIEVEMENTS OF THE DEPARTMENT OF MEDICAL SCIENCES (TO THE 95th ANNIVERSARY OF THE FOUNDATION OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF BELARUS)

National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus

Abstract. An analysis of historical documents and facts, scientific publications and information materials on the creation of the Department of Medical Sciences within the structure of the National Academy of Science of Belarus, the main stages of the development of fundamental and applied research in scientific organizations, the achievements of domestic medical scientists and the results of activities in the field of medicine was carried out. Promising directions for improvement and innovative development of academic medical science with the formation of integration platforms for interdisciplinary and interdepartmental interaction have been identified.

Keywords: medical science, research results, achievements, prospects

For citation: Bogdan V. G., Serdyuchenko N. S., Gnedko T. V. History of the creation, development and achievements of the Department of medical sciences (To the 90th anniversary of the foundation of the National Academy of Sciences of Belarus). *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya medytsynskikh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2023, vol. 20, no. 4, pp. 271–277 (in Russian). https://doi.org/10.29235/1814-6023-2023-20-4-271-277

Развитие медицинской науки Беларуси, являющейся одним из основных ресурсов национальной экономики, направлено на ускорение процесса трансфера результатов фундаментальных и поисковых исследований в практическое здравоохранение [1].

Рост числа неблагоприятных факторов внешней среды и инфекционных угроз, высокая интенсивность жизни и активная миграция, увеличение продолжительности жизни и демогра-

© Богдан В. Г., Сердюченко Н. С., Гнедько Т. В., 2023

фические проблемы определяют перечень стоящих перед медицинской наукой новых задач по обеспечению здоровья людей разного возраста, трудоспособности, активного долголетия, развитию персонализированной и высокотехнологичной помощи. Научные исследования и разработки в этой области отнесены к разряду основных направлений научно-технической деятельности в Республике Беларусь. Сохраняется приоритет в исследованиях, направленных на борьбу с социально значимыми заболеваниями, совершенствование методик реабилитации, расширение возможностей компенсировать утраченную функцию организма, его части или органа.

В целях реализации основных задач Академии наук по организации и координации фундаментальных и прикладных научных исследований в сфере биотехнологий, созданию новых разработок и получению новых знаний о физиологии человека было обосновано формирование и развитие академического научного потенциала в области медицины.

Отделение по проблемам медицины Академии наук Белорусской ССР было создано в 1991 г. постановлением Президиума Академии наук Белорусской ССР от 26 декабря 1991 г. № 110 для развития фундаментальных исследований в области медицины, интеграции научно-технического потенциала при решении важнейших научно-практических задач здравоохранения республики. Постановлением Президиума Академии наук Беларуси от 28 февраля 1995 г. № 16 подразделение было переименовано в Отделение медико-биологических наук Академии наук Беларуси. В 2003 г. путем преобразования, согласно приказу НАН Беларуси от 7 марта 2003 г. № 7, создано Отделение медицинских наук как основное научно-организационное подразделение в составе НАН Беларуси, объединяющее действительных членов (академиков) и членов-корреспондентов медицинского профиля [2, 3].

Вместе с тем Отделение медицинских наук координирует и направляет деятельность закрепленных за ним научных и иных организаций; обеспечивает развитие фундаментальных и прикладных научных исследований и разработок в медицинской науке; осуществляет организационно-техническое обеспечение проведения государственной научной экспертизы проектов; координирует формирование и выполнение программ исследований; оценивает результаты исследований и разработок; контролирует выполнение прогнозных показателей социально-экономического развития и бизнес-планов научных организаций, уровень подготовки научных кадров; анализирует эффективность международного научного сотрудничества; организует взаимодействие в рамках научной деятельности с министерствами, иными республиканскими органами государственного управления, научными организациями и учреждениями.

Отделение медицинских наук возглавляли академик В. Н. Гурин (1991–2002), член-корреспондент Е. Д. Белоенко (2002–2006), академик Е. Ф. Конопля (2006–2009), академик А. Г. Мрочек (2009–2011), член-корреспондент Н. С. Сердюченко (2014–2022). С 2022 г. по настоящее время деятельностью Отделения медицинских наук руководит доктор медицинских наук, профессор В. Г. Богдан [4].

В Отделении медицинских наук состоят (2023 г.) 9 академиков – А. В. Белецкий, С. А. Красный, В. А. Кульчицкий, А. Н. Михайлов, А. Г. Мрочек, Ю. П. Островский, О. О. Руммо, Л. П. Титов, С. И. Третьяк и 14 членов-корреспондентов – О. В. Алейникова, А. Г. Булгак, Ф. И. Висмонт, А. В. Воробей, М. А. Герасименко, С. В. Губкин, Г. Л. Гуревич, И. А. Карпов, А. Г. Мойсеенок, С. П. Рубникович, Н. С. Сердюченко, В. А. Снежицкий, В. В. Солтанов, Ю. Г. Шанько.

В состав Отделения входят научные организации – государственное научное учреждение «Институт физиологии НАН Беларуси», государственное научное учреждение «Институт радиобиологии НАН Беларуси», Республиканское научно-исследовательское унитарное предприятие «Институт биохимии биологически активных соединений НАН Беларуси» [4].

Становление и развитие Отделения медицинских наук связано с именами таких видных ученых-медиков, как академики И. П. Антонов, В. И. Вотяков, Д. М. Голуб, В. Н. Гурин, Е. П. Демидчик, Е. Ф. Конопля, Ф. В. Олешкевич, А. В. Руцкий, Н. Е. Савченко, Г. И. Сидоренко, А. Ф. Смеянович, А. В. Сукало, В. С. Улащик; члены-корреспонденты О.-Я. Л. Бекиш, Ю. Е. Демидчик, И. В. Залуцкий.

Достоянием академической науки являются созданные и действующие научные школы, которые формировались под руководством выдающихся ученых медицинского профиля: школа нейрофизиологов в Институте физиологии, школа биохимиков в Институте биохимии биологически активных соединений, школа радиационной токсикологии в Институте радиобиологии.

Первыми научными направлениями деятельности ученых Института физиологии в составе Отделения по проблемам медицины в 1991–2000 гг. стали фундаментальные исследования по изучению центральных и периферических механизмов терморегуляции, управлению функциями организма при гипо- и гипертермии в условиях развития лихорадочного синдрома, физиологических механизмов и морфологических основ жизнедеятельности человека и животных при адаптации к факторам среды. Экспериментально на органной культуре спинномозговых ганглиев доказано защитное действие плазминогена при нейротоксических изменениях нейронов, индуцированных глутаматом. Эффективность репаративных и пластических процессов в стволе головного мозга обусловлена чувствительностью нейронов к нейротоксическим концентрациям возбуждающих аминокислот.

В 1996 г. Указом Президента Республики Беларусь от 24 декабря 1996 г. № 561 Государственная премия Республики Беларусь в области естественных наук присуждена академику Валерию Николаевичу Гурину за цикл работ «Механизмы терморегуляции в норме и патологии».

За данный период учеными Института радиобиологии получены новые данные о влиянии ионизирующих излучений на состояние важнейших систем организма: эндокринной, сердечно-сосудистой, иммунной, репродуктивной и др. Выявлены индуцированные радиацией нарушения генетических, обменных и физиологических процессов. Доказано повреждающее действие на организм малых доз радиации при хроническом облучении в более поздний период с оценкой их влияния на формирование врожденных пороков развития.



Академик Е. Ф. Конопля представляет результаты научных исследований Института радиобиологии (2007 г.)

Основные направления фундаментальных исследований в Институте биохимии биологически активных соединений включали изучение молекулярных механизмов регуляции обмена веществ и его направленной коррекции биологически активными соединениями и разработку на их основе новых эффективных лечебно-профилактических средств, а также биохимических механизмов алкогольной зависимости.

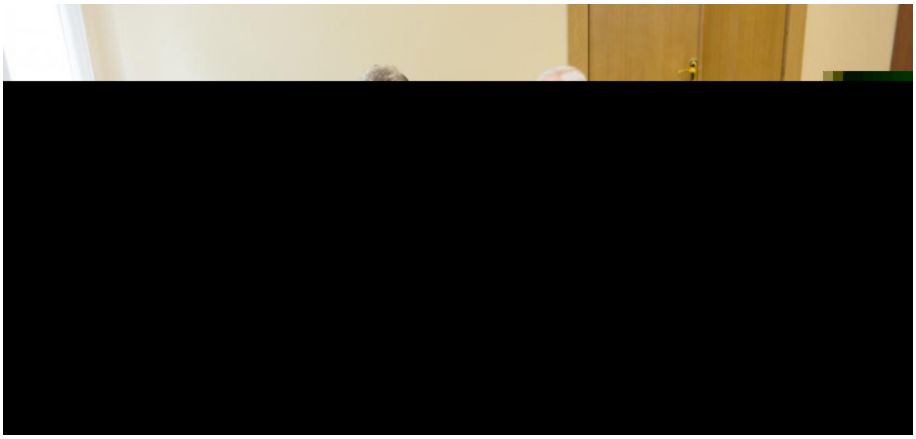
Расшифрованы механизмы антирадикальной и антиоксидантной активности урсодезоксихолевой кислоты, а также установлен выраженный гипогликемический эффект препарата. Получены новые данные, свидетельствующие о существовании неантиоксидантных механизмов предупреждения активации процессов перекисного окисления липидов в нервной ткани. Сформулирована гипотеза об участии водорастворимых витаминов (рибофлавина, тиамина, аскорбиновой кислоты) в молекулярном механизме реализации физиологических эффектов оксида азота.

За годы современного этапа исторического развития учеными Отделения сделан значительный вклад в развитие новых направлений, ориентированных на решение фундаментальных и прикладных задач по актуальным научным проблемам в области медицинских наук. Разработаны новые лечебные, диагностические, профилактические и реабилитационные технологии при моделировании ишемии тканей, новообразований, нейродегенеративных процессов; созданы экспериментальные образцы медицинской техники и изделий медицинского назначения, им-

Член-корреспондент А. Г. Мойсеенок за обсуждением результатов эксперимента (2002 г.)

мунобиологических препаратов, клеточных и молекулярно-биологических технологий; осуществляются мониторинг и прогнозирование состояния окружающей среды; разрабатываются механизмы адаптации организма человека к действию экстремальных факторов окружающей среды и защитные меры по преодолению отдельных радиоэкологических и медико-биологических последствий чернобыльской катастрофы.

Фундаментальные исследования ученых Института физиологии выполнялись на экспериментальных моделях для разработки физиологически обоснованных методов диагностики и лечения синдрома обструктивного апноэ сна, результаты которых были отмечены дипломом III степени в номинации «Лучший инновационный проект» Республиканского конкурса инновационных проектов 2012 г. Достижением 2015 г. стали разработки технологии восстановления когнитивных функций с помощью стабилографической платформы.



Академики А. В. Сукало и В. А. Кульчицкий, члены-корреспонденты Н. С. Сердюченко и И. В. Залуцкий в Институте физиологии на международной встрече с делегацией Национального института рака Литовской Республики по выполнению совместного проекта (2015 г.)

Достижением ученых Института физиологии за 2017 г. было признано создание микроэлектродной матрицы, нейронной сети на чипе для анализа электрической активности в культуре элементов нервной ткани при их дифференцировке.

Создание многофункциональной 3D-платформы (биопринтера) коллективом ученых Института физиологии под руководством академика В. А. Кульчицкого признано достижением 2018 г. Уникальное оборудование позволяет синтезировать трехмерные клеточные популяции при помощи 3D-печати гидрогелем, формировать структурированные и трехмерные нейронные сети *in vitro* и поддерживающие структуры для культивирования клеток и других элементов, разрабатывать перспективные методики *in vivo* для восстановления нарушенных функций мозга при травмах.

на создание прикладных технологий, изделий и интеллектуальных продуктов медицинского назначения с потенциалом импортозамещения и экспорта, внедрение трансляционной медицины, расширение междисциплинарного и международного сотрудничества в области биомедицины.

Успешная реализация перспективных задач и результативность медицинской академической науки возможна лишь в процессе совместной деятельности всего научного потенциала Отделения, включая материальные ресурсы и потенциал ведущих ученых Академии наук, научно-практических центров и учреждений образования Министерства здравоохранения для достижения общих целей сохранения здоровья нации.

Богатая история научных открытий, развития и реализации высокоинтеллектуального потенциала ученых Отделения медицинских наук стала достоянием настоящего и будущих поколений исследователей.

Список использованных источников

1. Малашко, В. А. Год науки: Важнейшие достижения белорусских ученых-медиков / В. А. Малашко // Новости науки и технологий. – 2017. – № 4 (43). – С. 13–20.

2. Наука Беларуси в XX столетии / редкол. : Н. А. Борисевич [и др.] ; Нац. акад. наук Беларуси, Комиссия по истории науки. – Минск : Белорус. наука, 2001. – 1006 с.

3. Национальная академия наук Беларуси : энцикл. справ. / Нац. акад. наук Беларуси ; редкол. : В. Г. Гусаков (гл. ред.) [и др.]. – Минск : Беларус. навука, 2017. – 599 с.

4. Национальная академия наук Беларуси : 95 лет / Нац. акад. наук Беларуси ; под ред. В. Г. Гусакова. – Минск : Беларус. навука, 2023. – 653 с.

5. Богдан, В. Г. Приоритеты и перспективы академической медицинской науки / В. Г. Богдан // Наука и инновации. – 2022. – № 10. – С. 39–44.

References

1. Malashko V. A. Year of science: The most important achievements of Belarusian medical scientists. *Novosti nauki i tekhnologii* [Science and technology news], 2017, no. 4 (43), pp. 13–20 (in Russian).

2. Borisevich N. A., Petrikov P. T., Astapchik S. A., Izobov N. A., Komarov V. S., Makhnach A. S. (eds.) [et al.]. *Science of Belarus in the XX century.* Minsk, Belorusskaya nauka Publ., 2001. 1006 p. (in Russian).

3. Gusakov V. G., Kil'chevskii A. V., Azarenko V. V., Kiselev G. K., Kovalenya A. A., Laskovnev A. P. (eds.) [et al.]. *National Academy of Sciences of Belarus.* Minsk, Belaruskaya navuka Publ., 2017. 599 p. (in Russian).

4. Gusakov V. G. (ed.). *National Academy of Sciences of Belarus: 95 years old*. Minsk, Belaruskaya navuka Publ., 2023. 653 p. (in Russian).

5. Bogdan V. G. Priorities and prospects of academic medical science. *Nauka i innovatsii* [Science and innovation], 2022, no. 10, pp. 39–44 (in Russian).

Информация об авторах

Богдан Василий Генрихович – д-р мед. наук, профессор, академик-секретарь Отделения медицинских наук НАН Беларуси. Национальная академия наук Беларуси (пр-т Независимости, 66, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: medic@presidium.bas-net.by

Сердюченко Николай Сергеевич – член-корреспондент, д-р мед. наук, профессор, пенсионер.

Гнедько Татьяна Васильевна – д-р мед. наук, доцент, заместитель академика-секретаря Отделения медицинских наук НАН Беларуси. Национальная академия наук Беларуси (пр-т Независимости, 66, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: medic@presidium.bas-net.by

Information about the authors

Vasily G. Bogdan – D. Sc. (Med.), Professor, Academician-Secretary of the Department of Medical Sciences of the National Academy of Sciences of Belarus. National Academy of Sciences of Belarus (66, Nezavisimosti Ave., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: medic@presidium.bas-net.by

Nikolay S. Serdyuchenko – Corresponding Member, D. Sc. (Med.), Professor, retired.

Tatyana V. Gnedko – D. Sc. (Med.), Associate Professor, Deputy Academician-Secretary of the Department of Medical Sciences of the National Academy of Sciences of Belarus. National Academy of Sciences of Belarus (66, Nezavisimosti Ave., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: medic@presidium.bas-net.by

ISSN 1814-6023 (Print)
ISSN 2524-2350 (Online)
УДК 616.311-002.157
https://doi.org/10.29235/1814-6023-2023-20-4-278-288

Поступила в редакцию 05.12.2022
Received 05.12.2022

Н. А. Карпук[1], С. П. Рубникович[2], И. В. Жильцов[1], О. Ч. Мазур[3], И. Ю. Карпук[1], Е. П. Михаленко[3]

[1]Витебский государственный медицинский университет, Витебск, Республика Беларусь
[2]Белорусский государственный медицинский университет, Минск, Республика Беларусь
[3]Институт генетики и цитологии НАН Беларуси, Минск, Республика Беларусь

АНАЛИЗ ВЗАИМОСВЯЗИ СОМАТИЧЕСКИХ МУТАЦИЙ С ФОРМИРОВАНИЕМ ЛЕЙКОПЛАКИИ И ПЛОСКОКЛЕТОЧНОГО РАКА СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ РОТОВОЙ ПОЛОСТИ

Аннотация. Молекулярно-генетические основы патогенеза лейкоплакий и плоскоклеточного рака слизистой оболочки ротовой полости (СОРП) недостаточно изучены. Исследований, посвященных данной проблеме, мало, а их результаты противоречивы. При этом ранняя диагностика рака СОРП и прогнозирование его развития являются важными проблемами здравоохранения.

Цель исследования – провести анализ взаимосвязи соматических мутаций с формированием лейкоплакии и плоскоклеточного рака слизистой оболочки ротовой полости.

Материалом для исследования являлись 48 образцов измененного эпителия СОРП пациентов с лейкоплакией СОРП (ЛСОРП) (24 образца) и с плоскоклеточным раком СОРП (ПРСОРП) (24 образца).

Выявленные в настоящем исследовании патогенные и вероятно патогенные варианты генов *TP53*, *NRAS* и *BRAF*, как поодиночке, так и в сочетаниях, с высокой вероятностью (ОР 3000–11000) ассоциированы с ЛСОРП с дисплазией эпителия первой степени, а варианты генов *ERCC3*, *HOXB13*, *KRAS*, *MSH3*, *MSH6*, *PIK3CA* и *TP53* с высокой вероятностью (ОР 90–22 000) ассоциированы с развитием ПРСОРП. Описанные патогенные варианты генов *KRAS* и *TP53*, как правило, приводят к формированию ЛСОРП с дисплазией эпителия первой степени, а последующее образование патогенных вариантов генов *PIC3CA* и/или *HOXB13* и *MSH3* вызывает злокачественную трансформацию измененных клеток эпителия СОРП ($p = 0{,}0000048$). Данная информация позволяет разработать тест-системы на основе ПЦР и NGS для ранней диагностики ПРСОРП и прогнозирования его развития.

Ключевые слова: ДНК-секвенирование, соматические мутации, лейкоплакия слизистой оболочки рта, плоскоклеточный рак слизистой оболочки рта

Для цитирования: Анализ взаимосвязи соматических мутаций с формированием лейкоплакии и плоскоклеточного рака слизистой оболочки ротовой полости / Н. А. Карпук [и др.] // Вес. Нац. акад. навук Беларусі. Сер. мед. навук. – 2023. – Т. 20, № 4. – С. 278–288. https://doi.org/10.29235/1814-6023-2023-20-4-278-288

Natalia A. Karpuk[1], Sergey P. Rubnikovich[2], Ivan V. Zhyltsou[1], Oksana C. Mazur[3], Ivan Yu. Karpuk[1], Alena P. Mikhalenka[3]

[1]Vitebsk State Medical University, Vitebsk, Republic of Belarus
[2]Belarusian State Medical University, Minsk, Republic of Belarus
[3]Institute of Genetics and Cytology of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus

ANALYSIS OF THE RELATIONSHIP OF SOMATIC MUTATIONS WITH THE DEVELOPMENT OF LEUKOPLAKIA AND SQUAMOUS CELL CARCINOMA OF THE ORAL MUCOSA

Abstract. The molecular genetic basis for pathogenesis of leukoplakia and squamous cell carcinoma of the oral mucosa (OM) is not well understood. Few studies are devoted to this problem and their results are incomplete and contradictory. At the same time, the early diagnosis of OM cancer and the prediction of its development are important public health problems.

The aim of the study was to analyze the relationship of somatic mutations with the formation of leukoplakia and squamous cell carcinoma of the oral mucosa.

48 altered OM epithelium samples of patients with OM leukoplakia (OML) (24 samples) and OM squamous cell carcinoma (OMSCC) (24 samples) were taken as material for research.

The pathogenic and probably pathogenic variants of the *TP53*, *NRAS*, and *BRAF* genes identified in this study, both as one by one and in combination, are associated with high probability (RR 3000–11 000) with OML with grade 1 epithelial squamous intraepithelial neoplasia. Identified pathogenic and probably pathogenic variants of the *ERCC3*, *HOXB13*, *KRAS*, *MSH3*, *MSH6*, *PIK3CA*, and *TP53* genes are associated with a high probability (RR 90–22 000) with the OMSCC development. The observed pathogenic variants of the KRAS and TP53 genes are highly likely to lead to the formation of OML with grade 1 squamous intraepithelial neoplasia of the epithelium; a subsequent formation of pathogenic variants of the PIC3CA

and/or HOXB13 and MSH3 genes leads to malignant transformation of altered OM epithelial cells (p = 0.0000048). This information allows designing PCR- and NGS-test systems for predicting the development and early diagnosis of OMSCC.

Keywords: DNA sequencing, somatic mutations, leukoplakia of the oral mucosa, squamous cell carcinoma of the oral mucosa

For citation: Karpuk N. A., Rubnikovich S. P., Zhyltsou I. V., Mazur O. C., Karpuk I. Yu., Mikhalenka A. P. Analysis of the relationship of somatic mutations with the development of leukoplakia and squamous cell carcinoma of the oral mucosa. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya medytsynskikh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2023, vol. 20, no. 4, pp. 278–288 (in Russian). https://doi.org/10.29235/1814-6023-2023-20-4-278-288

Введение. Слизистая оболочка ротовой полости (СОРП) относится к тканям с высокой интенсивностью пролиферации, что резко увеличивает частоту накопления ошибок деления клеточной массы и способствует развитию диспластических процессов и озлокачествлению эпителиальной ткани [1]. Рак слизистой оболочки рта и губ составляет 3 % от всех случаев рака. Известно, что 1/9 всех заболеваний СОРП имеют высокий риск злокачественной трансформации [2].

Молекулярно-генетические механизмы развития лейкоплакий СОРП (ЛСОРП) практически не изучались. Результаты крайне немногочисленных исследований показывают, что в эпителиоцитах при ЛСОРП имеются патогенные мутации гена *TP53*, особенно часто они обнаруживаются при диспластических процессах в эпителии, у курящих и злоупотребляющих алкоголем лиц [3, 4]. Есть указания на то, что количество одновременно выявляемых при ЛСОРП мутаций гена *TP53* напрямую связано со степенью эпителиальной дисплазии, ввиду чего подобные мутации являются ранними событиями канцерогенеза СОРП [5]. Имеются также сведения о возможной роли мутаций гена *NOTCH1* в патогенезе злокачественного перерождения оральных лейкоплакий. Указанные мутации, по данным авторов, обнаруживаются в 60 % случаев предраковых заболеваний эпителия СОРП [6].

Систематический обзор, выполненный Warnakulasuriya с соавт., показал, что общая частота злокачественной трансформации лейкоплакий составляет 3,5 %, однако во включенных в обзор исследованиях она варьировалась от 0,13 до 34 % [7].

Исследования молекулярно-генетических механизмов развития плоскоклеточного рака СОРП (ПРСОРП) немногочисленны, характеризуются небольшим количеством обследованных пациентов и противоречивостью полученных результатов. Согласно результатам этих исследований, ПРСОРП может быть ассоциирован с мутациями в генах семейства *NOTCH* [6, 8], *MCM2* (с сопутствующей повышенной экспрессией данного гена) [9], *TP53* (описана патогенная мутация данного гена TP53Arg72Pro) [10], в генах *FBXL5*, *UGT2B15*, *UGT2B28*, *KANSL1*, *GSTT1* и *DUSP22* [11], в семействе генов *RAS* (*Ha-ras*, *Ki-ras и N-ras*) [12], в генах *FAT1* и *COL9A1* (генетические варианты rs28647489 и rs550675 соответственно) [13] и др.

В Республике Беларусь исследований подобного рода ранее не предпринималось. Можно предположить, что существуют региональные особенности генетических вариантов, ассоциированных с развитием ЛСОРП и ПРСОРП. Знание подобных вариантов позволило бы разработать тест-системы на основе ПЦР и NGS для выявления клинически значимых генетических вариантов, что, в свою очередь, позволило бы расширить и дополнить существующие протоколы по оказанию помощи пациентам с заболеваниями СОРП, прежде всего в аспекте ранней диагностики указанных заболеваний и прогнозирования особенностей их течения и исхода.

Цель исследования – провести анализ взаимосвязи соматических мутаций с формированием лейкоплакии и плоскоклеточного рака слизистой оболочки ротовой полости.

Материалы и методы исследования. ***Характеристика пациентов, включенных в исследование.*** В исследование было включено 24 пациента с морфологически верифицированным диагнозом ЛСОРП с дисплазией эпителия первой степени (15 мужчин, 9 женщин). Средний возраст пациентов составил 59 лет (min – 42 года, max – 72 года, 95 % ДИ: 57–65 лет). Во всех случаях имела место плоская форма ЛСОРП, наиболее распространенная в популяции.

Также в исследование было включено 24 пациента с установленным диагнозом рака СОРП (13 мужчин, 11 женщин). Средний возраст пациентов составил 60,5 года (min – 38 лет, max – 75 лет, 95 % ДИ: 55–65 лет). Во всех случаях имела место первичная опухоль; у 100 % пациентов был диагностирован плоскоклеточный рак.

Лабораторные методы исследования. *Выполнение биопсии СОРП.* Перед проведением биопсии проводили инфильтрационную анестезию. Для этого вводили 0,3–1 мл анестетика под неизмененную слизистую оболочку на расстоянии 2–3 мм от элемента поражения на глубину приблизительно 2 мм и продвигали иглу под элементом поражения под слизистой оболочкой на протяжении 5 мм, приподнимая за счет давления анестетика пораженного участка СОРП на 1–3 мм. Участок СОРП иссекали с помощью скальпеля, делая два сходящихся полуовальных разреза. Размер биоптата зависел от размера очага поражения. При невозможности получения полноценного биоптата пациента исключали из исследования.

Биоптат СОРП делили на две равные части, одну из которых погружали в 10%-ный забуференный формалин (для получения гистологических и иммуногистохимических препаратов), а вторую переносили в пробирку Эппендорфа объемом 1,5 мл, заполненную буфером-стабилизатором нуклеиновых кислот, например буфером VXL (Qiagen, Германия), инактивирующим нуклеазы, после чего образец ткани транспортировали в молекулярно-генетическую лабораторию для экстракции ДНК.

Послеоперационную рану промывали раствором антисептика и накладывали 2–3 отдельных узловых шва.

Выделение ДНК из биопсийного материала слизистой оболочки ротовой полости и крови, секвенирование ДНК. Для выделения ДНК использовали набор QIAamp DNA FFPE Tissue Kit (Qiagen, Германия).

Все операции по экстракции ДНК из биологических образцов и подготовке ДНК-библиотек к секвенированию выполняли пошагово, в строгом соответствии с инструкциями по применению, прилагаемыми производителем (QIAGEN, Германия) к набору реагентов QIAamp DNA FFPE Tissue Kit для экстракции ДНК [14]. Таргетное ДНК-секвенирование выполняли при помощи высокопроизводительного секвенатора Illumina NextSeq 550 с применением набора реагентов для таргетного секвенирования TruSight™ Oncology 500 DNA Kit, For Use with NextSeq, который позволяет устанавливать первичные нуклеотидные последовательности 523 генов, ассоциированных с канцерогенезом. Процедуру секвенирования выполняли пошагово, в строгом соответствии с инструкцией, прилагаемой производителем (Illumina, Inc., США) к набору реагентов TruSight™ Oncology 500 DNA Kit, For Use with NextSeq [15].

Биоинформационный анализ. Биоинформационный анализ результатов ДНК-секвенирования выполняли с помощью специализированных комплексов программного обеспечения Illumina BaseSpace и Galaxy Project и в соответствии с актуальными методическими рекомендациями [16–18].

Статистическая обработка данных. Для статистической обработки данных использовали специализированные программные пакеты STATISTICA (версия 12) и MedCalc (версия 18.9.1). Центральную тенденцию и разброс значений анализируемых количественных показателей описывали в виде медианно-квартильных характеристик: медианы, 25-го и 75-го квартилей. Для сравнения категориальных переменных использовали критерий χ^2 и точный тест Фишера, для выявления статистической значимости различий количественных признаков – *U*-тест Манна–Уитни, для выявления генетических вариантов, статистически значимо ассоциированных с развитием плоскоклеточного рака СОРП, – корреляционный анализ Спирмена, а также логистический регрессионный анализ. В регрессионный анализ включали показатели с уровнем значимости $p < 0{,}1$. Для оценки влияния отдельных генетических вариантов на вероятность развития изучаемой патологии рассчитывали отношения шансов (ОШ) и отношения рисков (ОР), а также их 95%-ные доверительные интервалы (ДИ). Во всех случаях выявленные закономерности считали статистически значимыми при уровне значимости $p < 0{,}05$, при этом оптимальным уровнем значимости, общепризнанным среди биоинформатиков и однозначно указывающим на наличие взаимосвязи между генетическим вариантом и фенотипом, считали $p \leq 5 \cdot 10^{-8}$ [19].

Результаты и их обсуждение. Результаты биоинформационного анализа данных таргетного секвенирования образцов тканей лейкоплакии СОРП приведены в табл. 1.

Как следует из табл. 2, варианты генов *ALK* и *MET*, выявленные в настоящем исследовании, встречаются в популяции очень часто (это особенно справедливо для мутации гена *MET* 2:g.29193615T>C, которая встречается у трети населения земного шара, ввиду чего с очень

Т а б л и ц а 1. **Патогенные и вероятно патогенные генетические варианты, выявленные в образцах тканей пациентов с ЛСОРП**

T a b l e 1. **Pathogenic and probably pathogenic genetic variants detected in tissue samples of patients with OML**

Ген	Тип мутации, ее хромосомная локализация	Последствия мутации
KRAS proto-oncogene, GTPase (KRAS)	ОНП 12:g.25245347C>T	Миссенс: p.Gly13Asp
	ОНП 12:g.25245350C>T	Миссенс: p.Gly12Asp
	ОНП 12:g.25245350C>A	Миссенс: p.Gly12Val
	ОНП 12:g.25245351C>A	Миссенс: p.Gly12Cys
	ОНП 12:g.25245284G>T	Миссенс: p.Pro34Gln
NRAS proto-oncogene, GTPase (NRAS)	ОНП 1:g.114716126C>T	Миссенс: p.Gly12Asp
B-Raf proto-oncogene, serine/ threonine kinase (BRAF)	ОНП 7:g.140753336A>T	Миссенс: p.Val640Glu
Tumor protein p53 (TP53)	ОНП 17:g.7673803G>A	Миссенс: p.Arg273Cys
	ОНП 17:g.7675088C>T	Миссенс: p.Arg175His
	ОНП 17:g.7674220C>T	Миссенс: p.Arg248Gln
Catenin beta 1 (CTNNB1)	ОНП 3:g.41224633A>G	Миссенс: p.Thr41Ala
ASXL transcriptional regulator 1 (ASXL1)	Делеция 20:g.32433361TC>T	Сдвиг рамки чтения: p.Pro389GlnfsTer73
	ОНП 20:g.32433573G>T	Миссенс: p.Ala459Ser

П р и м е ч а н и е. ОНП – однонуклеотидный полиморфизм. Тип мутации обозначен как номер хромосомы (номер позиции нуклеотида в геноме) по номенклатуре HUGO, соответствующей началу генетического варианта (вид нуклеотидной замены или сдвига). Изменения в белковых продуктах соответствующих генов вследствие мононуклеотидных полиморфизмов обозначены как исходная аминокислота (номер позиции этой аминокислоты в белковой молекуле – аминокислота, заменившая исходную).

высокой вероятностью является доброкачественной). Вследствие этого разница между частотами их встречаемости в изученной выборке пациентов с ЛСОРП и в генеральной совокупности статистически незначима; соответственно, данные генетические варианты не могут быть ассоциированы с ЛСОРП.

Результаты биоинформационного анализа данных таргетного секвенирования образцов тканей ПРСОРП представлены в табл. 3.

Помимо вышеперечисленных патогенных генетических вариантов, в ходе анализа данных таргетного секвенирования нами выявлены и вероятно патогенные варианты, которые тоже могут быть ассоциированы с формированием ПРСОРП (табл. 4).

Анализ взаимосвязи между выявленными патогенными и вероятно патогенными генетическими вариантами, лейкоплакией и плоскоклеточным раком слизистой оболочки ротовой полости. Большинство патогенных и вероятно патогенных генетических вариантов, выявленных в ходе исследования, встречалось у единичных пациентов с ЛСОРП и ПРСОРП. Относительно часто встречались патогенные и вероятно патогенные варианты генов *TP53*, *KRAS*, *APC* и *PIC3CA* (табл. 5).

Из табл. 5 следует, что наиболее часто у пациентов с ЛСОРП и ПРСОРП наблюдались патогенные и вероятно патогенные варианты генов *KRAS* и *TP53.* При этом разница в частоте встречаемости вариантов между группами была статистически незначима. Обнаружена статистически

Т а б л и ц а 2. **Сравнительная частота встречаемости патогенных и вероятно патогенных генетических вариантов, выявленных в выборке пациентов с ЛСОРП и в человеческой популяции в целом**

T a b l e 2. **Comparative frequency of occurrence of pathogenic and probably pathogenic genetic variants identified in a sample of patients with OML and in the human population as a whole**

Ген	Тип мутации	Частота gnomAD, %	Частота в выборке, *n* (%)	ОР (95 % ДИ) ОШ (95 % ДИ)
KRAS	12:g.25245347C>T (p.Gly13Asp)	Нет данных	1 (4,17)	–
	12:g.25245350C>T (p.Gly12Asp)	0,0004	3 (12,50)	9519 (1026–88314) 10879 (1087–108869)
	12:g.25245350C>A (p.Gly12Val)	Нет данных	4 (16,67)	–
	12:g.25245351C>A (p.Gly12Cys)	Нет данных	1 (4,17)	–
	12:g.25245284G>T (p.Pro34Gln)	Нет данных	1 (4,17)	–
TP53	17:g.7673803G>A (p.Arg273Cys)	0,0012	2 (8,33)	6346 (595–67680) 6923 (605–79161)
	17:g.7675088C>T (p.Arg175His)	0,0004	2 (8,33)	6346 (595–67680) 6923 (605–79161)
	17:g.7674220C>T (p.Arg248Gln)	0,00119	1 (4,17)	3173 (204–49281) 3311 (201–54550)
	17:g.7673704G>A (p.Arg306Ter)	Нет данных	1 (4,17)	–
	17:g.7673717TG>T (p.Pro301GlnfsTer44)	Нет данных	1 (4,17)	–
	17:g.7670685G>A (p.Arg342Ter)	Нет данных	1 (4,17)	–
	17:g.7674894G>A (p.Arg213Ter)	Нет данных	1 (4,17)	–
	17:g.7673824C>T (p.Gly266Arg)	Нет данных	1 (4,17)	–
	17:g.7675085C>A (p.Cys176Phe)	0,0004	1 (4,17)	3173 (204–49281) 3311 (201–54550)
APC	5:g.112839606C>T (p.Gln1338Ter)	0,0004	1 (4,17)	3173 (204–49281) 3311 (201–54550)
	5:g.112828889C>T (p.Arg554Ter)	Нет данных	1 (4,17)	–
	5:g.112839942C>T (p.Arg1450Ter)	Нет данных	1 (4,17)	–
ASXL1	20:g.32433361TC>T (p.Pro389GlnfsTer73)	Нет данных	1 (4,17)	–
	20:g.32433573G>T (p.Ala459Ser)	Нет данных	1 (4,17)	–
NRAS	1:g.114716126C>T (p.Gly12Asp)	0,0008	1 (4,17)	3173 (204–49281) 3311 (201–54550)
	1:g.114713908T>A (p.Gln61Leu)	Нет данных	1 (4,17)	–
BRAF	7:g.140753336A>T (p.Val640Glu)	0,0004	2 (8,33)	6346 (595–67680) 6923 (605–79161)
ALK	2:g.29193615T>C (p.Lys1491Arg)	27,9	1 (4,17)	0,15 (0,022–1,017)* 0,11 (0,015–0,83)
CTNNB1	3:g.41224633A>G (p.Thr41Ala)	Нет данных	1 (4,17)	–
MET	7:g.116771936C>T (p.Thr992Ile)	0,7891	1 (4,17)	5,28 (0,77–36,03)* 5,47 (0,74–40,54)*
PIK3CA	3:g.179234302G>C (p.Gly1049Arg)	Нет данных	1 (4,17)	–
PTEN	10:g.87952142C>T (p.Arg173Cys)	Нет данных	1 (4,17)	–

П р и м е ч а н и е. ОР – отношение рисков, ОШ – отношение шансов, «Нет данных» – сведения о частоте данной мутации в человеческой популяции в базе данных gnomAD отсутствуют (т. е. ОР и ОШ рассчитать невозможно). * – показатель статистически незначим (диапазон значений доверительного интервала включает в себя ОР, ОШ).

Т а б л и ц а 3. **Патогенные генетические варианты, выявленные в ходе таргетного секвенирования образцов тканей ПРСОРП (*n* = 24)**

T a b l e 3. **Pathogenic genetic variants identified during targeted sequencing of OMSCC tissue samples (*n* = 24)**

Ген	Вариант гена	Последствия мутации
APC	5:g.112175423C>T	p.Gln1378Ter (формирование стоп-кодона, терминация синтеза белка)
TP53	17:g.7577538C>T	p.Arg248Gln (замена одной аминокислоты в кодируемом белке)
MSH2	2:g.47657020C>T	p.Arg406Ter (формирование стоп-кодона, терминация синтеза белка)
MSH3	5:g.79970914CA>C	p.Lys383ArgfsTer32 (сдвиг рамки чтения с образованием аномального белкового продукта в ходе трансляции гена)
MSH6	2:g.48030639A>AC	p.Phe1088LeufsTer5 (сдвиг рамки чтения с образованием аномального белкового продукта в ходе трансляции гена)
PTEN	10:g.89720726G>T	p.Gly293Ter (формирование стоп-кодона, терминация синтеза белка)
KRAS	12:g.25398284C>T 12:g.25398281C>T	p.Gly13Asp, p.Gly12Asp (замена одной аминокислоты в кодируемом белке)
ERCC3	2:g.128044348G>A	p.Arg425Ter (формирование стоп-кодона, терминация синтеза белка)
SMARCA4	19:g.11130337C>T	p.Thr859Met (замена одной аминокислоты в кодируемом белке)

П р и м е ч а н и е. Здесь и в табл. 4: генетический вариант обозначен как номер хромосомы (номер позиции нуклеотида, соответствующего началу генетического варианта в геноме) по номенклатуре HUGO (вид нуклеотидной замены или сдвига); изменения в белковых продуктах соответствующих генов вследствие однонуклеотидных полиморфизмов обозначены как исходная аминокислота (номер позиции этой аминокислоты в белковой молекуле – аминокислота, заменившая исходную).

Т а б л и ц а 4. **Вероятно патогенные генетические варианты, выявляемые у пациентов с ПРСОРП**

T a b l e 4. **Probably pathogenic genetic variants detected in patients with OMSCC**

Ген	Вариант гена	Последствия мутации
PIK3CA	3:g.178936091G>A 3:g.178936096G>T	p.Glu545Lys p.Gln546His (замена одной аминокислоты в кодируемом белке)
KRAS	12:g.25380275T>A	p.Gln61His (замена одной аминокислоты в кодируемом белке)
TP53	17:g.7578431G>A	p.Gln167Ter (формирование стоп-кодона, терминация синтеза белка)
HOXB13	17:g.46805705C>T	p.Gly84Glu (замена одной аминокислоты в кодируемом белке)
PTCH1	9:g.98209362GT>G	p.Asn1392ThrfsTer60 (сдвиг рамки чтения с образованием аномального белкового продукта в ходе трансляции)
NOTCH3	19:g.15302831G>T	p.Arg207Ser (замена одной аминокислоты в кодируемом белке)

Т а б л и ц а 5. **Сравнительная частота встречаемости патогенных и вероятно патогенных генетических вариантов, выявленных в образцах тканей пациентов с ЛСОРП и ПРСОРП**

T a b l e 5. **Comparative frequency of occurrence of pathogenic and probably pathogenic genetic variants detected in tissue samples of patients with OML and OMSCC**

Ген	Частота генетических вариантов, *n* (%)		Статистическая значимость различий, *p* (точный тест Фишера)
	ЛСОРП	ПРСОРП	
KRAS	10 (41,67)	12 (50,0)	0,77
TP53	11 (45,83)	10 (41,67)	1,0
APC	3 (12,50)	6 (25,0)	0,46
ASXL1	2 (8,33)	0	0,48
NRAS	2 (8,33)	0	0,48
BRAF	2 (8,33)	0	0,48
ALK	1 (4,17)	0	0,5
CTNNB1	1 (4,17)	0	0,5
MET	1 (4,17)	0	0,5
PIK3CA	1 (4,17)	11 (45,83)	0,0018*
PTEN	1 (4,17)	4 (16,67)	0,35
HOXB13	0	4 (16,67)	0,11

Окончание табл. 5

Ген	Частота генетических вариантов, *n* (%)		Статистическая значимость различий, *p* (точный тест Фишера)
	ЛСОРП	ПРСОРП	
MSH3	0	4 (16,67)	0,11
MSH2	0	3 (12,50)	0,23
ERCC3	0	2 (8,33)	0,48
SMARCA4	0	2 (8,33)	0,48
NOTCH3	0	2 (8,33)	0,48
MSH6	0	1 (4,17)	0,5
PTCH1	0	1 (4,17)	0,5

Примечание. * – разница статистически значима ($p \leq 0,05$).

В табл. 6 представлены результаты корреляционного анализа Спирмена, выполненного с целью поиска статистических взаимосвязей между выявлением патогенных и вероятно патогенных вариантов определенных генов и наличием у пациентов ЛСОРП и ПРСОРП.

Таблица 6. **Корреляционный анализ взаимосвязей между выявлением патогенных/вероятно патогенных вариантов различных генов и наличием у пациентов ЛСОРП и ПРСОРП**

Table 6. **Correlation analysis of the relationship between the detection of pathogenic/probably pathogenic variants of various genes and the presence of OML and OMSCC in patients**

Пары переменных	*N*	Коэффициент корреляции (Rho Спирмена)	*p*
Плоскоклеточный рак & *TP53*	48	–0,017	0,91
Плоскоклеточный рак & *KRAS*	48	0,084	0,57
Плоскоклеточный рак & *APC*	48	0,16	0,28
Плоскоклеточный рак & *PIK3CA*	48	0,48	0,00054*
Плоскоклеточный рак & *PTEN*	48	0,20	0,16
Плоскоклеточный рак & *HOXB13*	48	0,30	0,037*
Плоскоклеточный рак & *MSH3*	48	0,30	0,037*
Лейкоплакия & *TP53*	48	0,017	0,91
Лейкоплакия & *KRAS*	48	–0,084	0,57
Лейкоплакия & *APC*	48	–0,16	0,28
Лейкоплакия & *PIK3CA*	48	–0,48	0,00054*
Лейкоплакия & *PTEN*	48	–0,20	0,16
Лейкоплакия & *HOXB13*	48	–0,30	0,037*
Лейкоплакия & *MSH3*	48	–0,30	0,037*

Примечание. * – разница статистически значима ($p \leq 0,05$).

значимая разница в частоте встречаемости патогенных и вероятно патогенных вариантов гена *PIK3CA*, которые были выявлены почти у 11 пациентов с ПРСОРП и только у 1 пациента с ЛСОРП ($p = 0,0018$, Fisher's exact test).

Патогенные варианты прочих генов встречались в выборке слишком редко, чтобы надежно ассоциировать их с изучаемой патологией.

Из представленных в табл. 6 данных видно, что патогенные и вероятно патогенные варианты по крайней мере трех из перечисленных в таблице генов статистически значимо ассоциированы с наличием ПРСОРП – *PIC3CA* (R = 0,48, $p = 0,00054$), *HOXB13* и *MSH3* (для обоих R = 0,30, $p = 0,037$). Во всех перечисленных случаях вычисленный показатель *p* превышает уровень значимости, рекомендованный для исследований взаимозависимости между генотипом и фенотипом ($\alpha \leq 5 \cdot 10^{-8}$), что связано с относительно небольшим размером использованной выборки. Тем не менее следует все же принять во внимание выявленную взаимосвязь между наличием патогенных вариантов гена *PIC3CA* и ПРСОРП, поскольку уровень значимости данной зависимости достаточно высок для биомедицинских исследований ($p = 0,00054$), а коэффициент корреляции – средней силы.

Логистический регрессионный анализ, выполненный путем последовательного включения в регрессионное уравнение вариантов генов из табл. 6 в качестве независимых категориальных переменных, показал, что только патогенные и вероятно патогенные варианты генов *PIC3CA* (p = 0,00039), *HOXB13* (p = 0,015) и *MSH3* (p = 0,015) статистически значимо ассоциированы с наличием у пациентов ПРСОРП; патогенные и вероятно патогенные варианты прочих генов, включенных в анализ, не ассоциированы с наличием ПРСОРП. При использовании в качестве предиктора наличия ПРСОРП комбинации патогенных и вероятно патогенных вариантов всех трех генов (*PIC3CA*, *HOXB13* и *MSH3*) одновременно статистическая значимость модели существенно возрастает (p = 0,0000048). При этом добавление к данной комбинации вариантов любых других генов только ухудшало качество модели. Соответственно, регрессионная модель, включающая патогенные и вероятно патогенные варианты генов *PIC3CA*, *HOXB13* и *MSH3*, была принята достаточной по критерию «скупости» (простоты). Чувствительность данной модели составляет 70,8 % (правильно классифицировано 17 случаев наличия ПРСОРП из 24), специфичность – 95,8 % (правильно классифицировано 23 случая отсутствия ПРСОРП из 24); отношение несогласия для данной модели составляет 55,9, что указывает на достаточно высокое качество построенной модели (приблизительно в 56 раз лучше, чем если бы классификация событий была произведена наугад). Диагностическая эффективность модели составляет 83,33 % (доля правильно классифицированных случаев от общего количества наблюдений в выборке). Общая доля объясненной дисперсии, или коэффициент детерминации R^2 модели, составляет 80,45 %, что является хорошим показателем (значения в интервале 50–80 % считаются приемлемыми для биомедицинских исследований, >80 % – хорошими).

На основании результатов выполненного нами логистического регрессионного анализа можно утверждать, что одновременное выявление в измененных клетках эпителия СОРП патогенных и/или вероятно патогенных вариантов генов *PIC3CA*, *HOXB13* и *MSH3* статистически значимо ассоциировано с наличием у пациента ПРСОРП. Патогенные и вероятно патогенные варианты данных генов ассоциированы с наличием у пациента ПРСОРП и при выявлении их независимо друг от друга, но статистическая значимость такой ассоциации существенно ниже.

К сожалению, оценить влияние различных генетических вариантов на процесс эпителиальной дисплазии и развитие ЛСОРП не представлялось возможным, поскольку в изученной нами выборке отсутствовали здоровые лица, которые могли бы составить контрольную группу. Тем не менее, если вернуться к табл. 2, видно, что патогенные и вероятно патогенные варианты генов *KRAS*, *TP53*, *APC*, *NRAS*, *BRAF* встречаются у пациентов с ЛСОРП на три-четыре порядка чаще, чем в человеческой популяции в целом, что может указывать на ассоциацию указанных генетических вариантов с развитием дисплазии при ЛСОРП. Особо обращают на себя внимание патогенные варианты генов *KRAS* и *TP53*, которые, с одной стороны, достаточно часто встречаются у пациентов как с ЛСОРП, так и с ПРСОРП, а с другой стороны – регистрируются в данных клинических группах пациентов с сопоставимой частотой (см. табл. 5).

Как известно, ген *KRAS* действует как «молекулярный переключатель», который активирует белки, необходимые для распространения факторов роста и работы других сигнальных путей, таких как c-Raf и PI3-kinase [20]. Белковый продукт гена *TP53* – фактор, который запускает транскрипцию группы генов и активируется при накоплении повреждений ДНК. Результатом активации p53 является остановка клеточного цикла и репликации ДНК, а при сильном стрессовом сигнале запускается апоптоз [21]. Ген *PIC3CA* (ключевое звено сигнального пути *PI3K/AKT/mTOR*, который является универсальным) характерен для большинства клеток и отвечает за уход от апоптоза, регуляцию роста и пролиферации [22]. Ген *HOXB13* кодирует фактор транскрипции, который участвует в развитии кожи плода и в регенерации кожи в постнатальном периоде [23, 24]. Белковый продукт гена *MSH3* является частью пострепликативной системы репарации длинных петель вставки/делеции и ошибочного спаривания нуклеотидов преимущественно в микросателлитных участках ДНК [25].

Соответственно, имеются все основания предположить, что нарушение функции генов *KRAS* (отвечает за регуляцию роста, пролиферации и дифференцировки клеток) и *TP53* (отвечает за регуляцию репликации ДНК, апоптоза клеток и репарации поврежденной ДНК) вследствие

образования их патогенных вариантов приводит к клеточной дисплазии и формированию ЛСОРП с плоскоклеточной интраэпителиальной неоплазией эпителия первой степени. Дополнительное же образование патогенных вариантов генов *PIC3CA* (также отвечает за регуляцию апоптоза, роста и пролиферации клеток) и/или *HOXB13* (отвечает за регуляцию регенерации эпителия и эпидермиса) и *MSH3* (регулирует пострепликативную репарацию ДНК) приводит к злокачественной трансформации измененных клеток эпителия СОРП, ранее подвергшихся диспластическим процессам. Такая трактовка наших результатов соответствует господствующему в настоящее время варианту мутационной теории канцерогенеза – так называемой гипотезе «двойного удара» Альфреда Кнудсона, согласно которой для того, чтобы завершить процесс начавшейся неоплазии, требуется от трех до шести последовательных генетических повреждений [26].

Заключение. Наличие патогенных вариантов генов *KRAS* и *TP53*, как правило, приводит к клеточной дисплазии и формированию ЛСОРП с дисплазией эпителия первой степени, а последующее образование патогенных вариантов генов *PIC3CA* и/или *HOXB13* и *MSH3* вызывает злокачественную трансформацию измененных клеток эпителия СОРП ($p = 0{,}0000048$). Такая последовательность событий соответствует господствующему в настоящее время варианту мутационной теории канцерогенеза – гипотезе «двойного удара Альфреда Кнудсона.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Благодарности. Работа выполнена в рамках Государственной программы научных исследований «Установить спектр мутаций эпителия у пациентов с лейкоплакией слизистой оболочки рта» (№ ГР 20200246 от 02.03.2020).

Acknowledgements. The work was carried out within the framework of the state research program “To establish the spectrum of epithelial mutations in patients with leukoplakia of the oral mucosa” (No. GR 20200246 dated of 02.03.2020).

Список использованных источников

1. van der Waal, I. Oral leukoplakia: Present views on diagnosis, management, communication with patients, and research / I. van der Waal // Curr. Oral Health Rep. – 2019. – Vol. 6. – P. 9–13. https://doi.org/10.1007/s40496-019-0204-8

2. Kalavrezos, N. Mouth cancer for clinicians. Part 1: Cancer / N. Kalavrezos, C. Scully // Dent. Update. – 2015. – Vol. 42, N 3. – P. 250–260. https://doi.org/10.12968/denu.2015.42.3.250

3. Detection of TP53-mutations in brush biopsies from oral leukoplakias / C. Scheifele [et al.] // Mund. Kiefer. Gesichtschir. – 2002. – Vol. 6, N 6. – P. 410–414. https://doi.org/10.1007/s10006-002-0425-0

4. Specific characteristics of rapid diagnosis in periodontology / S. P. Rubnikovich [et al.] // Вес. Нац. акад. навук Беларусі. Сер. мед. навук. – 2021. – Т. 18, № 2. – С. 196–203. https://doi.org/10.29235/1814-6023-2021-18-2-196-203

5. Reddy, V. M. p53 immunoprofiling of potentially malignant oral disorders: a case series analysis / V. M. Reddy, A. Kamath, R. A. Radhakrishnan // Indian J. Cancer. – 2012. – Vol. 49, N 1. – P. 27–32. https://doi.org/10.4103/0019-509X.98913

6. Notch1 mutations are drivers of oral tumorigenesis / E. Izumchenko [et al.] // Cancer Prev. Res. (Phila). – 2015. – Vol. 8, N 4. – P. 277–286. https://doi.org/10.1158/1940-6207.CAPR-14-0257

7. Warnakulasuriya, S. Malignant transformation of oral leukoplakia: a systematic review of observational studies / S. Warnakulasuriya, A. Ariyawardana // J. Oral Pathol. Med. – 2016. – Vol. 45, N 3. – P. 155–166. https://doi.org/10.1111/jop.12339

8. Роль белков NOTCH в процессах канцерогенеза / М. В. Новикова [и др.] // Успехи молек. онкол. – 2015. – Т. 2, № 3. – С. 30–42.

9. Minichromosome maintenance-2 (MCM2) expression differentiates oral squamous cell carcinoma from pre-cancerous lesions / S. M. Razavi [et al.] // Malays. J. Pathol. – 2015. – Vol. 37, N 3. – P. 253–258.

10. Association between p53 Arg72Pro polymorphism and the risk of human papillomavirus-related head and neck squamous cell carcinoma: a meta-analysis / L. Y. Xia [et al.] // Asian Pac. J. Cancer Prev. – 2013. – Vol. 14, N 10. – P. 6127–6130. https://doi.org/10.7314/apjcp.2013.14.10.6127

11. Genomic profile of oral squamous cell carcinomas with an adjacent leukoplakia or with an erythroleukoplakia that evolved after the treatment of primary tumor: A report of two cases / I. P. Ribeiro [et al.] // Mol. Med. Rep. – 2017. – Vol. 16, N 5. – P. 6780–6786. https://doi.org/10.3892/mmr.2017.7428

12. Analysis of ras oncogene mutations in human squamous cell carcinoma of the head and neck / F. Núñez [et al.] // Surg. Oncol. – 1992. – Vol. 1, N 6. – P. 405–411. https://doi.org/10.1016/0960-7404(92)90043-k

13. Variants in FAT1 and COL9A1 genes in male population with or without substance use to assess the risk factors for oral malignancy / C. M. Chung [et al.] // PLoS ONE. – 2019. – Vol. 14, N 1. – P. e0210901. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0210901

14. QIAamp® DNA FFPE Tissue Handbook (February 2020) [Electronic resource]. – Mode of access: https://www.qiagen.com/us/products/discovery-and-translational-research/dna-rna-purification/dna-purification/genomic-dna/qiaamp-dna-ffpe-tissue-kit/. – Date of access: 27.10.2022.

15. Illumina TruSight Oncology 500 Reference Guide [Electronic resource]. – Mode of access: https://support.illumina.com/content/dam/illumina-support/documents/documentation/chemistry_documentation/trusight/oncology-500/trusight-oncology-500-reference-guide-1000000067621_07.pdf. – Date of access: 26.05.2021.

16. Экспериментальное обоснование применения мезенхимальных стволовых клеток для восстановления тканей периодонта / Ю. Л. Денисова [и др.] // Мед. вестн. Север. Кавказа. – 2020. – Т. 15, № 3. – С. 333–337.

17. Каюмов, А. Р. Молекулярный анализ генома: учеб.-метод. пособие / А. Р. Каюмов. – Казань : Казань, Казан. федер. ун-т. – 2016. – 60 с.

18. Next generation sequencing for the detection of actionable mutations in solid and liquid tumors / A. J. Fox [et al.] // J. Vis. Exp. – 2016. – Vol. 115. – P. e52758. https://doi.org/10.3791/52758

19. Assessing statistical significance in multivariable genome wide association analysis / L. Buzdugan [et al.] // Bioinformatics. – 2016. – Vol. 32, N 13. – P. 1990–2000. https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btw128

20. Evaluation of KRAS concomitant mutations in advanced lung adenocarcinoma patients / V. Aran [et al.] // Medicina (Kaunas). – 2021. – Vol. 57, N 10. – P. 1039–1048. https://doi.org/10.3390/medicina57101039

21. Lane, D. P. p53: oncogene or anti-oncogene? / D. P. Lane, S. Benchimol // Genes Dev. – 1990. – Vol. 4, N 1. – P. 1–8. https://doi.org/10.1101/gad.4.1.1

22. Canaud, G. A review of mechanisms of disease across PIK3CA-related disorders with vascular manifestations / G. Canaud, A. M. Hammill, D. Adams // Orphanet J. Rare Dis. – 2021. – Vol. 16, N 1. – P. 306–316. https://doi.org/10.1186/s13023-021-01929-8

23. Oncoprotein HBXIP enhances HOXB13 acetylation and co-activates HOXB13 to confer tamoxifen resistance in breast cancer / B. Liu [et al.] // J. Hematol. Oncol. – 2018. – Vol. 11, N 1. – Art. 26. https://doi.org/10.1186/s13045-018-0577-5

24. Hoxb13, a potential prognostic biomarker for prostate cancer / A. Ouhtit [et al.] // Front Biosci (Elite Ed.). – 2016. – Vol. 1, N 8. – P. 40–45. https://doi.org/10.2741/E749

25. Exome sequencing identifies biallelic MSH3 germline mutations as a recessive subtype of colorectal adenomatous polyposis / R. Adam [et al.] // Am. J. Hum. Genet. – 2016. – Vol. 99, N 2. – P. 337–351. https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2016.06.015

26. Berger, A. H. A continuum model for tumour suppression / A. H. Berger, A. G. Knudson, P. P. Pandolfi // Nature. – 2011. – Vol. 476, N 7359. – P. 163–169. https://doi.org/10.1038/nature10275

References

1. van der Waal I. Oral leukoplakia: Present views on diagnosis, management, communication with patients, and research. *Current Oral Health Reports*, 2019, vol. 6, pp. 9–13. https://doi.org/10.1007/s40496-019-0204-8

2. Kalavrezos N., Scully C. Mouth cancer for clinicians. Part 1: Cancer. *Dental Update*, 2015, vol. 42, no. 3, pp. 250–260. https://doi.org/10.12968/denu.2015.42.3.250

3. Scheifele C., Schlechte H., Bethke G., Reichart P. A. Detection of TP53-mutations in brush biopsies from oral leukoplakias. *Mund-, Kiefer- und Gesichtschirurgie*, 2002, vol. 6, no. 6, pp. 410–414. https://doi.org/10.1007/s10006-002-0425-0

4. Rubnikovich S. P., Dedova L. N., Semizhon P. A., Denisova, Yu. L., Kandrukevich, O. V. Specific characteristics of rapid diagnosis in periodontology. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya medytsynskikh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2021, vol. 18, no. 2, pp. 196–203. https://doi.org/10.29235/1814-6023-2021-18-2-196-203

5. Reddy V. M., Kamath A., Radhakrishnan R. A. p53 immunoprofiling of potentially malignant oral disorders: a case series analysis. *Indian Journal of Cancer*, 2012, vol. 49, no. 1, pp. 27–32. https://doi.org/10.4103/0019-509X.98913

6. Izumchenko E., Sun K., Jones S., Brait M., Agrawal N., Koch W. [et al.]. Notch1 mutations are drivers of oral tumorigenesis. *Cancer Prevention Research* (*Phila*), 2015, vol. 8, no. 4, pp. 277–286. https://doi.org/10.1158/1940-6207.CAPR-14-0257

7. Warnakulasuriya S., Ariyawardana A. Malignant transformation of oral leukoplakia: a systematic review of observational studies. *Journal of Oral Pathology and Medicine*, 2016, vol. 45, no. 3, pp. 155–166. https://doi.org/10.1111/jop.12339

8. Novikova M. V., Rybko V. A., Khromova N. V., Farmakovskaya M. D., Kopnin P. B. The role of notch pathway in carcinogenesis. *Uspekhi molekulyarnoi onkologii* [Advances in molecular oncology], 2015, vol. 2, no. 3, pp. 30–42 (in Russian).

9. Razavi S. M., Jafari M., Heidarpoor M., Khalesi S. Minichromosome maintenance-2 (MCM2) expression differentiates oral squamous cell carcinoma from pre-cancerous lesions. *Malaysian Journal of Pathology*, 2015, vol. 37, no. 3, pp. 253–258.

10. Xia L. Y., Zeng X. T., Li C., Leng W. D., Fan M. W. Association between p53 Arg72Pro polymorphism and the risk of human papillomavirus-related head and neck squamous cell carcinoma: a meta-analysis. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 2013, vol. 14, no. 10, pp. 6127–6130. https://doi.org/10.7314/apjcp.2013.14.10.6127

11. Ribeiro I. P., Marques F., Barroso L., Rodrigues J., Caramelo F., Melo J. B., Carreira I. M. Genomic profile of oral squamous cell carcinomas with an adjacent leukoplakia or with an erythroleukoplakia that evolved after the treatment of primary tumor: A report of two cases. *Molecular Medicine Reports*, 2017, vol. 16, no. 5, pp. 6780–6786. https://doi.org/10.3892/mmr.2017.7428

12. Núñez F., Domínguez O., Coto E., Suarez-Nieto C., Perez P., Lopez-Larrea C. Analysis of ras oncogene mutations in human squamous cell carcinoma of the head and neck. *Surgical Oncology*, 1992, vol. 1, no. 6, pp. 405–411. https://doi.org/10.1016/0960-7404(92)90043-k

13. Chung C. M., Hung C. C., Lee C. H., Lee C. P., Lee K. W., Chen M. K., Yeh K. T., Ko Y. C. Variants in FAT1 and COL9A1 genes in male population with or without substance use to assess the risk factors for oral malignancy. *PLoS ONE*, 2019, vol. 14, no. 1, p. e0210901. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0210901

14. *QIAamp® DNA FFPE Tissue Handbook (February 2020).* Available at: https://www.qiagen.com/us/products/discovery-and-translational-research/dna-rna-purification/dna-purification/genomic-dna/qiaamp-dna-ffpe-tissue-kit/ (accessed 27.10.2022).

15. *Illumina TruSight Oncology 500 Reference Guide.* Available at: https://support.illumina.com/content/dam/illumina-support/documents/documentation/chemistry_documentation/trusight/oncology-500/trusight-oncology-500-reference-guide-1000000067621_07.pdf (accessed 26.05.2021).

16. Denisova Yu. L., Sirak S. V., Rubnikovich S. P., Andreeva V. A., Kuz'menko E. V., Khomich I. S., Volotovskii I. D., Vladimirskaya T. E. Experimental substantiation of mesenchymal stem cell application for the restoration of periodontal tissue. *Meditsinskii vestnik Severnogo Kavkaza = Medical News of North Caucasusthis*, 2020, vol. 15, no. 3, pp. 333–337 (in Russian).

17. Kayumov A. R. *Molecular analysis of the genome*. Kazan, Kazan Federal University, 2016. 60 p. (in Russian).

18. Fox A. J., Hiemenz M. C., Lieberman D. B., Sukhadia S., Li B., Grubb J. [et al.]. Next generation sequencing for the detection of actionable mutations in solid and liquid tumors. *Journal of Visualized Experiments*, 2016, vol. 115, p. e52758. https://doi.org/10.3791/52758

19. Buzdugan L., Kalisch M., Navarro A., Schunk D., Fehr E., Bühlmann P. Assessing statistical significance in multivariable genome wide association analysis. *Bioinformatics*, 2016, vol. 32, no. 13, pp. 1990–2000. https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btw128

20. Aran V., Zalis M., Montella T., de Sousa C. A. M., Ferrari B. L., Ferreira C. G. Evaluation of KRAS concomitant mutations in advanced lung adenocarcinoma patients. *Medicina (Kaunas)*, 2021, vol. 57, no. 10, pp. 1039–1048. https://doi.org/10.3390/medicina57101039

21. Lane D. P., Benchimol S. p53: oncogene or anti-oncogene? *Genes & Development*, 1990, vol. 4, no. 1, pp. 1–8. https://doi.org/10.1101/gad.4.1.1

22. Canaud G., Hammill A. M., Adams D. A review of mechanisms of disease across PIK3CA-related disorders with vascular manifestations. *Orphanet Journal of Rare Diseases*, 2021, vol. 16, no. 1, pp. 306–316. https://doi.org/10.1186/s13023-021-01929-8

23. Liu B., Wang T., Wang H., Zhang L., Xu F., Fang R. [et al.]. Oncoprotein HBXIP enhances HOXB13 acetylation and co-activates HOXB13 to confer tamoxifen resistance in breast cancer. *Journal of Hematology & Oncology*, 2018, vol. 11, no. 1, art. 26. https://doi.org/10.1186/s13045-018-0577-5

24. Ouhtit A., Al-Kindi M. N., Kumar P. R., Gupta I., Shanmuganathan S., Tamimi Y. Hoxb13, a potential prognostic biomarker for prostate cancer. *Frontiers in Bioscience (Elite Ed.)*, 2016, vol. 1, no. 8, pp. 40–45. https://doi.org/10.2741/E749

25. Adam R., Spier I., Zhao B., Kloth M., Marquez J., Hinrichsen I. [et al.]. Exome Sequencing Identifies biallelic MSH3 germline mutations as a recessive subtype of colorectal adenomatous polyposis. *American Journal of Human Genetics*, 2016, vol. 99, no. 2, pp. 337–351. https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2016.06.015

26. Berger A. H., Knudson A. G., Pandolfi P. P. A continuum model for tumour suppression. *Nature*, 2011, vol. 476, no. 7359, pp. 163–169. https://doi.org/10.1038/nature10275

Информация об авторах

Карпук Наталья Анатольевна – канд. мед. наук, доцент. Витебский государственный медицинский университет (пр-т Фрунзе, 27, 210009, г. Витебск, Республика Беларусь). https://orcid.org/0000-0001-9991-7034. E-mail: ms.karpuk@mail.ru

Рубникович Сергей Петрович – член-корреспондент, д-р мед. наук, профессор, ректор. Белорусский государственный медицинский университет (пр. Дзержинского, 83, 220116, г. Минск, Республика Беларусь). https://orcid.org/0000-0002-7450-3757. E-mail: rubnikovich@mail.ru

Жильцов Иван Викторович – д-р мед. наук, профессор, заведующий кафедрой. Витебский государственный медицинский университет (пр-т Фрунзе, 27, 210009, г. Витебск, Республика Беларусь). https://orcid.org/0000-0002-4912-2880. E-mail: zhyltsou@tut.by

Мазур Оксана Чеславовна – науч. сотрудник. Институт генетики и цитологии НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). https://orcid.org/0000-0002-6093-4548. E-mail: terezia@mail.ru

Карпук Иван Юрьевич – д-р мед. наук, доцент, профессор, декан. Витебский государственный медицинский университет (пр-т Фрунзе, 27, 210009, г. Витебск, Республика Беларусь). https://orcid.org/0000-0001-9991-7035. E-mail: ikarpuk@mail.ru

Михаленко Елена Петровна – канд. биол. наук, вед. науч. сотрудник. Институт генетики и цитологии НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). https://orcid.org/0000-0003-4543-2862. E-mail: michalenko75@mail.ru

Information about the authors

Natalia A. Karpuk – Ph. D. (Med.), Associate Professor. Vitebsk State Medical University (27, Frunze Ave., 210009, Vitebsk, Republic of Belarus). https://orcid.org/0000-0001-9991-7034. E-mail: ms.karpuk@mail.ru

Sergey P. Rubnikovich – Corresponding Member, D. Sc. (Med.), Professor, Rector. Belarusian State Medical University (83, Dzerzhinski Ave., 220116, Minsk, Republic of Belarus). https://orcid.org/0000-0002-7450-3757. E-mail: rubnikovich@mail.ru

Ivan V. Zhyltsou – D. Sc. (Med.), Professor, Head of the Department. Vitebsk State Medical University (27, Frunze Ave., 210009, Vitebsk, Republic of Belarus). https://orcid.org/0000-0002-4912-2880. E-mail: zhyltsou@tut.by

Oksana C. Mazur – Researcher. Institute of Genetics and Cytology of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). https://orcid.org/0000-0002-6093-4548. E-mail: terezia@mail.ru

Ivan Yu. Karpuk – D. Sc. (Med.), Associate Professor, Professor, dean. Vitebsk State Medical University (27, Frunze Ave., 210009, Vitebsk, Republic of Belarus). https://orcid.org/0000-0001-9991-7035. E-mail: ikarpuk@mail.ru

Alena P. Mikhalenka – Ph. D. (Biol.), Leading Researcher. Institute of Genetics and Cytology of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). https://orcid.org/0000-0003-4543-2862. E-mail: michalenko75@mail.ru

ISSN 1814-6023 (Print)
ISSN 2524-2350 (Online)
УДК 616.711.6-001.7-089-035
https://doi.org/10.29235/1814-6023-2023-20-4-289-298

Поступила в редакцию 10.01.2023
Received 10.01.2023

М. А. Герасименко[1], А. Н. Мазуренко[1], С. В. Макаревич[1], П. С. Ремов[1], М. А. Косцов[2]

[1]Республиканский научно-практический центр травматологии и ортопедии, Минск, Республика Беларусь
[2]Белорусский государственный медицинский университет, Минск, Республика Беларусь

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ПРОГРАММНОГО КОМПЛЕКСА SCALES ПРИ ПЛАНИРОВАНИИ ТАКТИКИ ХИРУРГИЧЕСКОГО ЛЕЧЕНИЯ ПАЦИЕНТОВ С ДЕГЕНЕРАТИВНЫМ СПОНДИЛОЛИСТЕЗОМ ПОЯСНИЧНЫХ ПОЗВОНКОВ

Аннотация. Цель исследования – разработка виртуального программного комплекса, позволяющего на основе персонифицированных показателей осуществлять планирование хирургической тактики и выполнять дифференцированное лечение пациентов с дегенеративным спондилолистезом поясничных позвонков.

Базой для создания виртуального комплекса стали результаты хирургического лечения пациентов ретроспективной группы.

Разработанный виртуальный программный комплекс представляет собой экспертную систему принятия решения о хирургической тактике для пациентов с дегенеративным спондилолистезом поясничных позвонков. Работа программы основана на автоматизированном анализе заданного перечня входных параметров. Ядро виртуального комплекса представлено двумя конфигурациями, одна из которых содержит искусственную нейронную сеть. В результате виртуальной обработки индивидуальных показателей пациента программа выдает ответ в виде двух цветовых шкал с числовыми метками: шкалы дифференцированного выбора между изолированной декомпрессией и декомпрессией, дополненной задним спондилодезом; шкалы дифференцированного выбора между ляминэктомией, дополненной медиальной фасетэктомией, и двусторонней декомпрессией позвоночного канала из одностороннего доступа. С использованием разработанного программного комплекса проведено хирургическое лечение 26 пациентов с дегенеративным спондилолистезом поясничных позвонков.

Виртуальный комплекс Scales, основанный на учете ключевых общесоматических и клинико-рентгенологических показателей пациента, создает возможность для принятия хирургом максимально взвешенного и обоснованного решения по тактике хирургического лечения дегенеративного спондилолистеза на поясничном уровне. Персонифицированный подход в сочетании с технологией искусственного интеллекта направлен на снижение вероятности тактических ошибок и отдаленных осложнений после хирургических вмешательств. Использование цветовых шкал с цифровыми метками позволяет упростить процесс предоперационного планирования и создать условия для достижения баланса между решением программы и индивидуальным мнением специалиста-хирурга. Результатом дифференцированного лечения группы пациентов с использованием виртуальной системы стало существенное и статистически значимое ($p < 0{,}001$) улучшение качества жизни оперированных пациентов в отдаленном периоде.

Ключевые слова: спондилолистез, программный комплекс, нейронная сеть, входные параметры, дифференцированное лечение

Для цитирования: Использование программного комплекса Scales при планировании тактики хирургического лечения пациентов с дегенеративным спондилолистезом поясничных позвонков / М. А. Герасименко [и др.] // Вес. Нац. акад. навук Беларусі. Сер. мед. навук. – 2023. – Т. 20, № 4. – С. 289–298. https://doi.org/10.29235/1814-6023-2023-20-4-289-298

Mikhail A. Gerasimenko[1], Andrey N. Mazurenko[1], Sergey V. Makarevich[1], Pavel S. Remov[1], Maksim A. Kostsov[2]

[1]Republican Scientific and Practical Center of Traumatology and Orthopedics, Minsk, Republic of Belarus
[2]Belarusian State Medical University, Minsk, Republic of Belarus

USE OF THE SCALES SOFTWARE COMPLEX IN PLANNING THE SURGICAL TREATMENT OF PATIENTS WITH LUMBAR DEGENERATIVE SPONDYLOLISTHESIS

Abstract. The aim of the study was to develop a virtual software package that, when it is based on personalized indicators, allows planning surgical tactics and performing differentiated treatment of patients with degenerative lumbar spondylolisthesis.

The results of surgical treatment of retrospective group patients were the basis for creation of a virtual complex.

A virtual software package has been developed. It is an expert system for making decisions about surgical tactics for patients with lumbar degenerative spondylolisthesis. The operation of the program is based on the automated analysis of a given list of input parameters. The core of the virtual complex is represented by two configurations, one of which contains an artificial neural network. As a result of virtual processing of the patient's individual parameters, the program gives an answer in

the form of two color scales with numerical labels: a scale of differentiated choice between isolated decompression and decompression supplemented with posterior fusion; scales for a differentiated choice between laminectomy supplemented with medial facetectomy and bilateral decompression of the spinal canal from a unilateral approach. Using the developed software package, surgical treatment of 26 patients with lumbar degenerative spondylolisthesis was performed.

The Scales virtual complex, based on key general somatic and clinical and radiological parameters of a patient, creates an opportunity for a surgeon to make the most balanced and informed decision on the tactics of surgical treatment of lumbar degenerative spondylolisthesis. A personalized approach, accompanied by artificial intelligence technology, is aimed at reducing the likelihood of tactical errors and long-term complications of surgical interventions. The use of color scales with digital labels makes it possible to simplify the process of preoperative planning and to create conditions for achieving a balance between the decision of the program and the individual opinion of a specialist surgeon. The result of differentiated treatment of a group of patients using a virtual system was a significant and statistically significant ($p < 0.001$) improvement in the life quality of operated patients in the long-term period.

Keywords: spondylolisthesis, software package, neural network, input parameters, differentiated treatment

For citation: Gerasimenko M. A., Mazurenko A. N., Makarevich S. V., Remov P. S., Kostsov M. A**.** Use of the Scales software complex in planning the surgical treatment of patients with lumbar degenerative spondylolisthesis. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya medytsynskikh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2023, vol. 20, no. 4, pp. 289–298 (in Russian). https://doi.org/10.29235/1814-6023-2023-20-4-289-298

Введение. Выбор оптимальной тактики хирургического лечения дегенеративного спондилолистеза на поясничном уровне – один из сложных и актуальных вопросов современной вертебрологии [1–3]. На сегодняшний день отсутствует консенсус относительно показаний к использованию заднего спондилодеза, а диагностические критерии спинальной нестабильности остаются неоднозначными [4].

Вместе с тем именно тактические ошибки при выборе того или иного типа хирургического вмешательства являются весомой причиной неудовлетворительных отдаленных исходов, таких как послеоперационная нестабильность и «болезнь неудачно оперированного позвоночника» [5]. Для решения существующих в хирургии дегенеративно-дистрофических заболеваний позвоночника проблем активно используются CAS-технологии (computer assisted surgery). К ним относятся 3D-визуализация, моделирование, экспертные системы и алгоритмы принятия решений. Виртуальные системы предоперационного планирования, основанные на учете персонифицированных показателей пациента, – перспективное направление как в цифровой индустрии в целом, так и в спинальной хирургии [6, 7].

За последнее десятилетие увеличилось количество публикаций, в которых описываются системы поддержки принятия решений, основанные на элементах искусственного интеллекта, включая машинное обучение и нейронные сети [8, 9]. Несмотря на интенсивное развитие технологий, на сегодняшний день не существует виртуальной системы, позволяющей оценивать степень необходимости выполнения заднего спондилодеза при дегенеративном спондилолистезе поясничных позвонков.

Для решения поставленных задач на предыдущей стадии исследования нами была предложена экспертная математическая система принятия решения о хирургической тактике при поясничных дорсопатиях [10]. Дальнейшим этапом работы стала трансформация математической модели в виртуальный комплекс, основанный на применении искусственного интеллекта.

Цель исследования – разработка виртуального программного комплекса, позволяющего на основе персонифицированных показателей осуществлять планирование хирургической тактики и выполнять дифференцированное лечение пациентов с дегенеративным спондилолистезом поясничных позвонков.

Объекты и методы исследования. Объектами для создания ядра виртуального комплекса, представленного в работе, являлись пациенты ретроспективной группы (n = 178), оперированные по поводу дегенеративного поясничного спондилолистеза на базе нейрохирургических отделений РНПЦ травматологии и ортопедии в период с 2017 по 2022 г. На этапе исследования, предшествовавшем разработке программы, нами изучены корреляционные показатели между клиническими и спондилометрическими параметрами. Установлено влияние исходных индивидуальных параметров пациентов с дегенеративным поясничным спондилолистезом на отдаленный исход [11].

Проспективную группу составили 26 пациентов, которым выполнялось дифференцированное хирургическое лечение с использованием нового виртуального комплекса.

В исследование включены случаи дегенеративного спондилолистеза поясничных позвонков I степени (по классификации H. W. Meyerding). Исключены случаи дегенеративного спондилолистеза в комбинации с деформациями позвоночника, случаи латеролистеза. В ходе оценки отдаленных результатов хирургического лечения учитывали следующие параметры: интенсивность болевого синдрома в поясничном отделе позвоночника (ПОП) и в ногах по визуальной аналоговой шкале (ВАШ), качество жизни пациентов с использованием анкеты Освестри. При определении выраженности болевого синдрома учитывали дооперационные, ранние и поздние послеоперационные показатели, в то время как качество жизни изучали в дооперационном и позднем послеоперационном периоде. Для инструментальной диагностики отдаленных осложнений и последствий хирургического лечения использовали рентгеновскую компьютерную (РКТ) и магнитно-резонансную (МРТ) томографию, а также функциональную рентгенографию ПОП.

Статистическую обработку выполняли с помощью программы Statistica 10.0. Для изучения нормальности распределения количественных данных применяли тест Шапиро–Уилка. Если исследованные параметры не соответствовали закону нормального распределения, использовали непараметрические методы. Количественные данные представлены в виде медианы (Me) и интерквартильного размаха [25-й (LQ); 75-й (UQ) перцентили]. При сравнении показателей в до- и послеоперационном периоде использовали тест Вилкоксона. Критический уровень значимости, принятый при проверке статистических гипотез, – $p < 0{,}05$. Для расчета доверительного интервала (ДИ, 95 %) частоты встречаемости исследуемых признаков применяли метод Вальда.

Результаты исследования. Результатом исследования стало создание программного виртуального комплекса Scales («Шкалы»), представляющего собой экспертную систему принятия решения о хирургической тактике для пациентов с дегенеративным спондилолистезом поясничных позвонков. Работа программы основана на учете индивидуальных клинических и спондилометрических показателей пациента, составляющих единый комплекс входных параметров. При обработке входных данных виртуальный алгоритм дает ответ о типе необходимого хирургического вмешательства в каждом конкретном случае. Базой для создания ядра виртуального комплекса являются отдаленные результаты хирургического лечения пациентов ретроспективной группы.

При разработке виртуального комплекса использовали языки программирования Python и R (среды Jupiter Notebook и RStudio соответственно), а также подсистемы построения клиентских приложений Windows Presentation Foundation в составе программной платформы NET Framework версии 4.5.2. Учитывая тот факт, что сбор данных и оценка результатов хирургического лечения ретроспективной группы продолжаются, на данном этапе нами предложено две конфигурации рабочего ядра программы: одна содержит нейронную сеть, вторая – математическую основу с набором индивидуальных весов для каждого из параметров.

В ходе исследования создана искусственная нейронная сеть, представленная многослойным персептроном с наличием у каждого нейрона сигмоидной функции активации. При определении значимости входных параметров и оценке их влияния на риск прогрессирования спинальной нестабильности применяли метод логистической регрессии. Соотношение выборки для обучения и тестовой выборки – 1 : 1. Программа содержит набор автоматизированных модульных тестов, использующих библиотеки тестирования XUnit и Moq. При разработке рабочих окон виртуального комплекса задействован пользовательский интерфейс Todo. Параметры проверяются на валидность согласно заданным рамкам. При использовании математической конфигурации ядра программы для каждого из показателей назначается фиксированный набор весов для вычисления индивидуальной оценки.

Все входные параметры, вносимые в рабочее окно виртуального комплекса, разделены на основные (общесоматические, клинико-рентгенологические, хирургические) и дополнительные.

Общесоматические параметры. В перечень общесоматических параметров включены пол, возраст пациента, индекс массы тела, наличие регулярных вредных привычек (выкуривание более двух сигарет в неделю, употребление алкоголя более чем 2 раза в неделю). Кроме этого, при анализе общесоматических показателей учитывается наличие или отсутствие следующих нозологических форм (в скобках указаны шифры по МКБ-10):

сахарный диабет (E10–E14);
ревматические болезни (I00–I02, I05–I09, M30–M36, M79.0);
хронические болезни ЖКТ (K25, K27, K74);
хронические болезни дыхательной системы (J44, J45);
хронические болезни почек (N00–N08);
хронические болезни сердца (I20–I25);
цереброваскулярные болезни (I60–I64);
злокачественные новообразования (C00–C97);
болезни крови и кроветворных органов (D50–D89);
психические расстройства и расстройства поведения (F00–F99);
болезни нервной системы (G00–G99), при условии наличия стойкого неврологического дефицита и нарушения самообслуживания пациента.

Клинико-рентгенологические параметры. Данная группа показателей включает наличие и степень выраженности у пациента люмбалгии и нейрогенной перемежающей хромоты, а также ряд рентгенологических параметров, для оценки которых необходимо проведение РКТ, МРТ и функциональной рентгенографии ПОП. В перечень спондилографических показателей включены:

ангуляция – угол между двумя линиями, проводимыми параллельно нижней замыкательной пластинке вышележащего позвонка и верхней замыкательной пластинке нижележащего позвонка;

трансляция – разница между линейным смещением вышележащего позвонка в положения флексии и экстензии;

среднее линейное смещение – среднее арифметическое значение между линейным смещением вышележащего позвонка в положениях флексии, экстензии и в нейтральном положении;

факт наличия или отсутствия снижения высоты межпозвонкового диска;

наличие и конфигурация вентральных спондилофитов;

факт наличия или отсутствия «вакуум-феномена» в заинтересованном межпозвонковом диске;

средняя плотность костной ткани в заданных точках по ходу планируемой траектории транспедикулярного винта;

фасеточный угол, измеряемый в заинтересованном позвоночно-двигательном сегменте с двух сторон (факт наличия или отсутствия тропизма дугоотростчатых суставов определяется программой автоматически).

Рабочее окно виртуального комплекса с внесенными клинико-рентгенологическими параметрами представлено на рис. 1.

Хирургические параметры. К данной группе показателей относятся:

количество уровней, требующих декомпрессии невральных структур;

количество дугоотростчатых суставов, в которых объем необходимой резекции суставных отростков превышает 1/3 от всей ширины сустава.

Дополнительные параметры. В перечень дополнительных параметров включены:

кранио-каудальная протяженность стенозированного участка, соответствующего зоне декомпрессии;

глубина хирургического доступа (расстояние от уровня кожи до основания остистого отростка);

значение межсуставного связочного сагиттального размера позвоночного канала в точке наибольшей компрессии дурального мешка;

значение переднезаднего сагиттального размера позвоночного канала в точке наибольшей компрессии дурального мешка;

конфигурация остистого отростка (факт наличия или отсутствия его отклонения в сторону, противоположную стороне наибольших клинических проявлений);

факт наличия одностороннего корешкового или корешково-сосудистого синдрома при полном отсутствии клинических проявлений на противоположной стороне.

После ввода индивидуальных параметров пациента в рабочее окно программы виртуальный алгоритм проводит автоматическую обработку данных и представляет результаты обработки

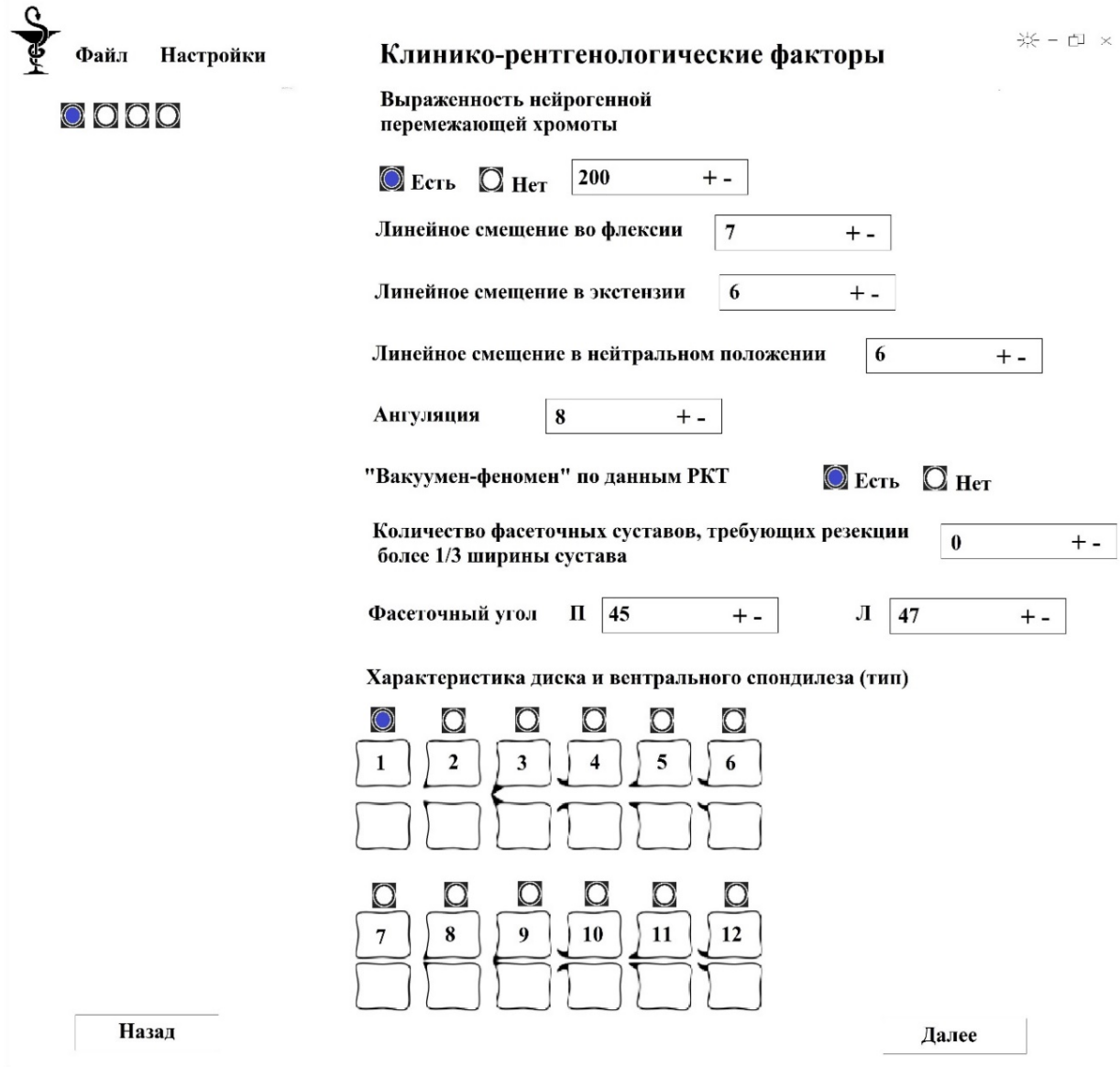


Рис. 1. Рабочее окно программы с внесенными клинико-рентгенологическими параметрами

Fig. 1. Working window of the program with the introduced clinical and radiological parameters

в виде двух цветовых шкал с числовыми метками. Шкала № 1 (шкала дифференцированного выбора между изолированной декомпрессией и декомпрессией, дополненной задним спондилодезом) отражает степень необходимости транспедикулярной фиксации (при необходимости дополненной межтеловым спондилодезом) в заинтересованном позвоночно-двигательном сегменте. Верхняя часть шкалы соответствует задней декомпрессии без фиксации, нижняя часть – задней декомпрессии, дополненной спондилодезом.

В случае, если шкала № 1 указывает на необходимость выполнения изолированной декомпрессии без спондилодеза, в рабочее окно программы вносятся дополнительные параметры, после чего осуществляется второй этап автоматической обработки данных. При этом в работу включается шкала № 2 – шкала дифференцированного выбора между ляминэктомией, дополненной медиальной фасетэктомией, и двусторонней декомпрессией позвоночного канала из одностороннего доступа. Верхняя часть шкалы соответствует двусторонней декомпрессии из одностороннего доступа, нижняя – ляминэктомии.

Таким образом, предоперационное планирование хирургической тактики при дегенеративном спондилолистезе поясничных позвонков с использованием искусственного интеллекта осуществляется в два этапа. На первом этапе (шкала № 1) в ходе автоматического анализа учитываются только общесоматические, клинико-рентгенологические и хирургические параметры, на втором этапе (шкала № 2) – дополнительные параметры, а также некоторые из основных показателей. Общий вид цветовых шкал в рабочем окне виртуального комплекса показан на рис. 2.

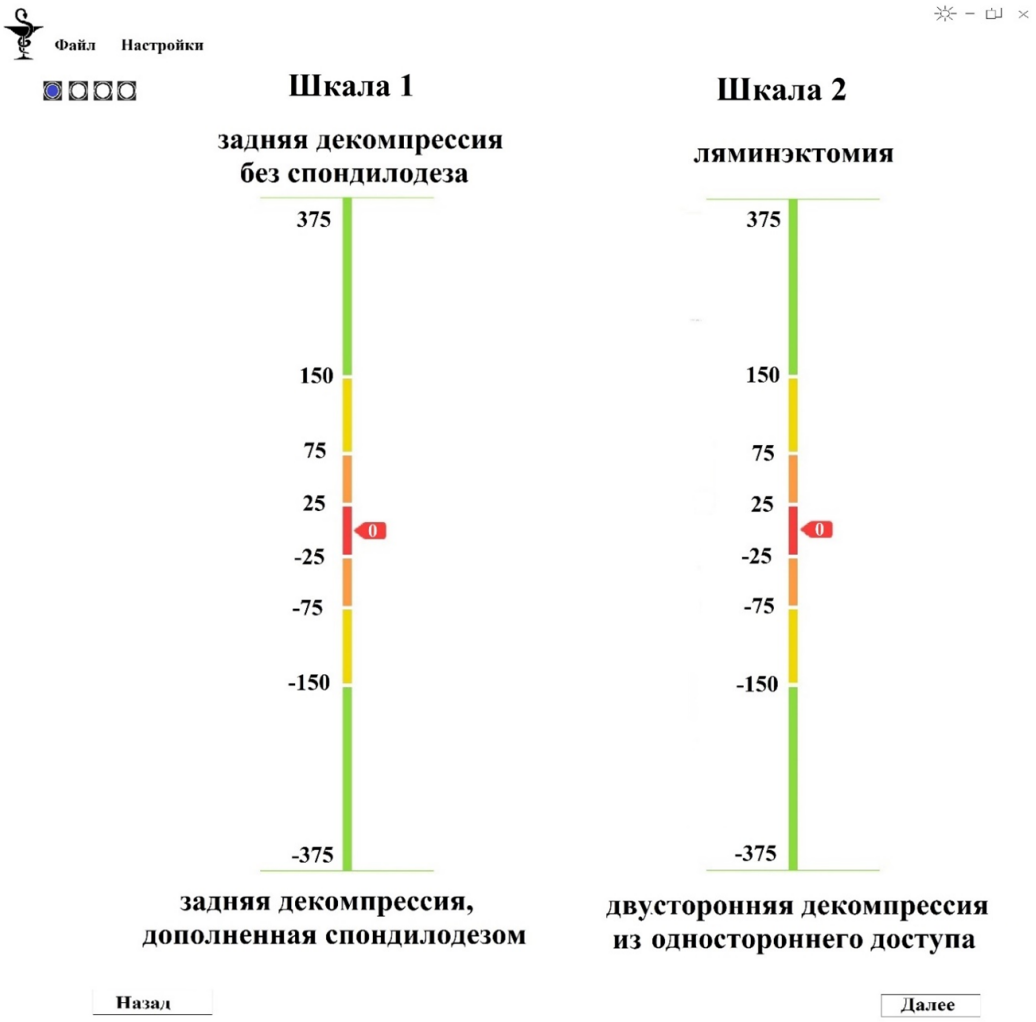


Рис. 2. Общий вид цветовых шкал в рабочем окне программного комплекса

Fig. 2. General view of the color scales in the working window of the software package

Инновационный подход при планировании хирургического лечения дегенеративного спондилолистеза позволяет осуществлять дифференцированный выбор между следующими методиками:

малоинвазивная точечная двусторонняя декомпрессия, выполняемая из одностороннего доступа;

задняя декомпрессия в объеме ляминэктомии, дополненной двусторонней медиальной фасетэктомией;

задняя декомпрессия, дополненная транспедикулярной фиксацией и, при необходимости, межтеловым спондилодезом.

С использованием разработанного виртуального комплекса на базе нейрохирургических отделений РНПЦ травматологии и ортопедии проведено дифференцированное хирургическое лечение 26 пациентов с дегенеративным поясничным спондилолистезом. В 10 случаях, согласно

решению программы, выполнялась задняя декомпрессия (в объеме ляминэктомии в комбинации с двусторонней медиальной фасетэктомией), дополненная спондилодезом. В 11 случаях проводилась ляминэктомия без спондилодеза. Двусторонняя декомпрессия из одностороннего доступа применялась, согласно данным предоперационного планирования, в 5 случаях.

Показатели интенсивности болевого синдрома и качества жизни оперированных пациентов представлены в таблице.

Отдаленные результаты хирургического лечения, Me (25-й (LQ); 75-й (UQ) перцентили)

Long-term surgical treatment results, Me (25th (LQ); 75th (UQ) percentiles)

Показатель	До операции (1)	В день выписки из стационара (2)	В отдаленном периоде (3)	Тест Вилкоксона, попарное сравнение, значимость
Интенсивность боли в ПОП (по ВАШ), баллы	7,0 [6,0; 8,0]	3,8 [2,8; 5,0]	3,0 [2,0; 3,0]	$p_{1-2} < 0{,}001$ $p_{2-3} < 0{,}001$ $p_{1-3} < 0{,}001$
Интенсивность боли в ногах (по ВАШ), баллы	7,3 [6,0; 8,1]	2,5 [2,0; 4,0]	2,0 [1,0; 3,0]	$p_{1-2} < 0{,}001$ $p_{2-3} = 0{,}061$ $p_{1-3} < 0{,}001$
Индекс Освестри, %	54,0 [45,1; 62,0]	–	22,0 [16,0; 30,1]	$p_{1-3} < 0{,}001$

Как видно из данных таблицы, в позднем послеоперационном периоде у пациентов проспективной группы отмечалась существенная и статистически значимая ($p < 0{,}001$) регрессия болевого синдрома по сравнению с дооперационным периодом. Медиана индекса Освестри в отдаленном периоде составила 22,0 [16,0; 30,1] %, что является высоким показателем и подтверждает эффективность дифференцированного хирургического лечения спондилолистеза поясничных позвонков с применением виртуального программного комплекса.

В ходе анализа спондилометрических показателей в позднем послеоперационном периоде установлено, что при использовании задней декомпрессии без спондилодеза (в объеме ляминэктомии) у 1 из 11 пациентов имеется увеличение линейного смещения вышележащего позвонка без признаков клинического ухудшения, а еще в одном случае отмечается усиление болевого синдрома, ассоциированное (по данным нейровизуализации) с выраженным рубцово-спаечным процессом в зоне декомпрессии невральных структур.

Обсуждение. Интенсивное развитие медицины и насыщенный поток этиопатогенетических данных диктуют необходимость создания новых методов обработки стартовых клинических и инструментальных показателей пациента [6, 8, 12]. В настоящее время активно разрабатываются системы поддержки принятия решений – программы, осуществляющие сбор и обработку индивидуальных параметров пациента. Современные виртуальные комплексы, включая технологию нейронных сетей, позволяют проводить автоматический интеллектуальный анализ и становятся все более популярными и востребованными в сфере хирургии [13, 14].

В 2021 г. российскими учеными В. А. Бывальцевым и А. А. Калининым была предложена система принятия решения о тактике при дегенеративно-дистрофических заболеваниях поясничного отдела позвоночника. Согласно представленным авторами данным, с использованием программы успешно выполнено 59 хирургических вмешательств с применением методик тотальной артропластики, заднего минимально инвазивного и косого межтелового спондилодеза [15]. A. Wirries с соавт. (2021 г.) была применена технология машинного обучения, которая позволила прогнозировать параметры качества жизни пациентов после удаления грыж межпозвонковых дисков на поясничном уровне [16]. Исследование A. Campagner с соавт. (2020 г.) продемонстрировало эффективность машинного обучения при прогнозировании результатов заднего спондилодеза на основе показателей инвазивности вмешательства и дооперационных воспалительных маркеров [17].

В 2019 г. группой белорусских исследователей были опубликованы данные о создании математической модели планирования лечебной тактики для пациентов с остеохондрозом. Модель

включает автоматизированный сбор показателей пациента, определение степени выраженности дегенеративно-дистрофического процесса и классификацию, позволяющую определить вектор оказания специализированной помощи [18].

В целом необходимость разработки новых систем автоматизированного анализа данных в вертебрологии возрастает [9, 15]. В то же время, несмотря на востребованность методик искусственного интеллекта, их применение в области хирургии дегенеративно-дистрофических заболеваний позвоночника является ограниченным. Доказательная база эффективности и безопасности использования машинного обучения в спинальной нейрохирургии является недостаточной [19].

Разработанный нами программный комплекс представляет собой автоматизированную экспертную систему принятия решения. Ядро программы базируется на опыте хирургического лечения ретроспективной группы, а также на применении современных методик статистического анализа (включая логистическую регрессию), позволивших создать корреляционную матрицу. Виртуальная система соответствует современным тенденциям развития хирургии позвоночника, где принципиальное значение имеет предоперационная подготовка, основанная на дифференцированном подходе и учете индивидуальных показателей пациента [20]. Программа не имеет аналогов, является простой в эксплуатации, может быть использована врачами-нейрохирургами и травматологами-ортопедами, оказывающими специализированную помощь пациентам с дегенеративным спондилолистезом поясничных позвонков.

Заключение. Разработанный виртуальный комплекс, основанный на учете ключевых общесоматических и клинико-рентгенологических показателей пациента, создает возможность для принятия хирургом максимально взвешенного и обоснованного решения по тактике хирургического лечения дегенеративного спондилолистеза на поясничном уровне. Мы полагаем, что сочетание персонифицированного подхода и технологии искусственного интеллекта позволит снизить вероятность тактических ошибок и отдаленных осложнений после хирургических вмешательств. Цветовые шкалы с числовыми метками обеспечивают наглядную демонстрацию степени необходимости того или иного типа хирургического лечения. Их использование позволяет упростить процесс предоперационного планирования и создать условия для достижения баланса между решением программы и индивидуальным мнением специалиста-хирурга. Результатом дифференцированного лечения группы пациентов с использованием виртуальной системы Scales стало существенное и статистически значимое ($p < 0{,}001$) улучшение качества жизни оперированных пациентов в отдаленном периоде. Однако для более полной оценки эффективности предложенного виртуального комплекса необходимы дальнейшие исследования с большим числом пациентов и более продолжительным сроком наблюдения.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список использованных источников

1. A narrative review of lumbar fusion surgery with relevance to chiropractic practice / C. J. Daniels [et al.] // J. Chiropr. Med. – 2016. – Vol. 15, N 4. – P. 259–271. https://doi.org/10.1016/j.jcm.2016.08.007

2. Reid, P. C. State of the union: a review of lumbar fusion indications and techniques for degenerative spine disease: JNSPG 75th anniversary invited review article / P. C. Reid, S. Morr, M. G. Kaiser // J. Neurosurg.: Spine. – 2019. – Vol. 31, N 1. – P. 1–14. https://doi.org/10.3171/2019.4.SPINE18915

3. Оконешникова, А. К. Выбор тактики хирургического лечения пациентов с дегенеративными заболеваниями нижнепоясничного отдела позвоночника с учетом индивидуальных параметров дугоотростчатых суставов : дис. … канд. мед. наук : 14.01.18 / А. К. Оконешникова. – Новосибириск, 2019. – 187 с.

4. Lumbar interbody fusion: techniques, indications and comparison of interbody fusion options including PLIF, TLIF, MI-TLIF, OLIF/ATP, LLIF and ALIF / R. J. Mobbs [et al.]. // J. Spine Surg. – 2015. – Vol. 31, N 1. – P. 2–18. https://doi.org/10.3978/j.issn.2414-469X.2015.10.05

5. Decompression with or without concomitant fusion in lumbar stenosis due to degenerative spondylolisthesis: a systematic review / M. L. Dijkerman [et al.] // Eur. Spine J. – 2018. – Vol. 27. – P. 1629–1643. https://doi.org/10.1007/s00586-017-5436-5

6. Борщенко, И. А. Использование современных методов математического интеллектуального анализа данных для получения алгоритма минимально-инвазивного хирургического лечения дегенеративных заболеваний поясничного отдела позвоночника / И. А. Борщенко, Я. А. Борщенко, А. В. Басков // Вертебрология в России: итоги и перспективы развития : сб. материалов V съезда хирургов-вертебрологов России, Саратов, 23–24 мая 2014 г. / Сарат. науч.-исслед. ин-т травматологии и ортопедии ; редкол. : Д. М. Пучиньян [и др.]. – Саратов, 2014. – С. 38–40.

7. Компьютерная программа для анализа цифровых МРТ пояснично-крестцового отдела позвоночника / Н. Е. Комлева [и др.] // Вестн. новых мед. технологий. – 2012. – Т. 19, № 1. – С. 192–195.

8. Artificial intelligence-enhanced intraoperative neurosurgical workflow: current knowledge and future perspectives / L. Tariciotti [et al.] / J. Neurosurg. Sci. – 2022. – Vol. 66, N 2. – P. 139–150. 10.23736/S0390-5616.21.05483-7

9. Machine learning applications to clinical decision support in neurosurgery: an artificial intelligence augmented systematic review / Q. Buchlak [et al.]. // Neurosurg. Rev. – 2020. – Vol. 43, N 5. – P. 1235–1253. https://doi.org/10.1007/s10143-019-01163-8

10. Ремов, П. С. Определение хирургической тактики при поясничных дорсопатиях с использованием программного обеспечения / П. С. Ремов, А. Н. Мазуренко, С. В. Макаревич // Traum. Orthop. Kazakhstan. – 2021. – N 58 (Special iss.). – P. 53–55.

11. Сравнительный анализ отдаленных результатов хирургического лечения дегенеративного спондилолистеза на поясничном уровне / П. С. Ремов [и др.] // Здравоохранение. – 2022. – № 9. – С. 51–58.

12. Смартфон-ассистированная технология дополненной реальности при предоперационном планировании в хирургии позвоночника / Е. В. Ковалев [и др.] // Хирургия позвоночника. – 2021. – Т. 18, № 3. – С. 94–99.

13. Lee, S. H. Comparison of clinical and radiological outcomes after automated open lumbar discectomy and conventional microdiscectomy: a prospective randomized trial / S. H. Lee, J. S. Bae // Int. J. Clin. Exp. Med. – 2015. – Vol. 8, N 8. – P. 12135–12148.

14. Горбачев, С. В. Нейро-нечеткие методы в интеллектуальных системах обработки и анализа многомерной информации / С. В. Горбачев, В. И. Сырямкин. – Томск : Изд-во Том. ун-та, 2014. – 442 с.

15. Бывальцев, В. А. Оценка эффективности системы поддержки принятия решений в спинальной нейрохирургии для персонифицированного использования минимально-инвазивных технологий на поясничном отделе позвоночника / В. А. Бывальцев, А. А. Калинин // Соврем. технологии в медицине. – 2021. – Т. 13, № 5. – С. 13–23.

16. Artificial intelligence facilitates decision making in the treatment of lumbar disc herniations / A. Wirries [et al.] // Eur. Spine J. – 2021. – Vol. 30, N 8. – P. 2176–2184. https://doi.org/10.1007/s00586-020-06613-2

17. Assessment and prediction of spine surgery invasiveness with machine learning techniques / A. Campagner [et al.] // Comput. Biol. Med. – 2020. – Vol. 121. – Art. 103796. https://doi.org/10.1016/j.compbiomed.2020.103796

18. Масалитина, Н. Н. Математическая модель принятия решений при лечении остеохондроза поясничного отдела позвоночника / Н. Н. Масалитина, К. С. Курочка, Е. Л. Цитко // Информатика. – 2019. – Т. 16, № 1. – С. 24–35.

19. Реброва, О. Ю. Жизненный цикл система поддержки принятия решений как медицинских технологий / О. Ю. Реброва // Врач и информ. технологии. – 2020. – № 1. – С. 27–37.

20. Разработка алгоритма клинико-инструментальной диагностики некомпрессионных поясничных болевых синдромов для оптимизации использования пункционных хирургических методик / А. А. Калинин [и др.] // Иннов. медицина Кубани. – 2020. – № 4. – С. 27–34.

References

1. Daniels C. J., Wakefield P. J., Bub G. A., Toombs J. D. A narrative review of lumbar fusion surgery with relevance to chiropractic practice. *Journal of Chiropractic Medicine*, 2016, vol. 15, no. 4, pp. 259–271. https://doi.org/10.1016/j.jcm.2016.08.007

2. Reid P. C., Morr S., Kaiser M. G. State of the union: a review of lumbar fusion indications and techniques for degenerative spine disease: JNSPG 75th anniversary invited review article. *Journal of Neurosurgery: Spine*, 2019, vol. 31, no. 1, pp. 1–14. https://doi. org/10.3171/2019.4.SPINE18915

3. Okoneshnikova A. K. *Choice of tactics of surgical treatment patients with degenerative diseases of the lower lumbar spine, taking into account the individual parameters of the facet joints.* Ph. D. Thesis. Novosibirisk, 2019. 187 p.

4. Mobbs R. J., Phan K., Malham G., Seex K., Rao P. J. Lumbar interbody fusion: techniques, indications and comparison of interbody fusion options including PLIF, TLIF, MI-TLIF, OLIF/ATP, LLIF and ALIF. *Journal of Spine Surgery*, 2015, vol. 31, no. 1, pp. 2–18. https://doi.org/10.3978/j.issn.2414-469X.2015.10.05

5. Dijkerman M. L., Overdevest G. M., Moojen W. A., Vleggeert-Lankamp C. L. Decompression with or without concomitant fusion in lumbar stenosis due to degenerative spondylolisthesis: a systematic review. *European Spine Journal*, 2018, vol. 31, pp. 1629–1643. https://doi.org/10.1007/s00586-017-5436-5

6. Borshhenko I. A., Borshchenko Ja. A., Baskov A. V. The use of modern methods of mathematical data mining to obtain an algorithm for minimally invasive surgical treatment of degenerative diseases of the lumbar spine. *Vertebrologiya v Rossii: itogi i perspektivy razvitiya: V s''ezd khirurgov-vertebrologov Rossii (23–24 maya 2014 goda, Saratov): sbornik materialov* [Vertebrology in Russia: results and development prospects: V congress of vertebrological surgeons of Russia (May 23–24, 2014, Saratov): collection of materials]. Saratov, 2014, pp. 38–40 (in Russian).

7. Komleva N. E., Daurov S. K., Bol'shakov A. A., Glazkov V. P., Bakutkin V. V., Mar'yanovskii A. A. Computer programme for analyzing digital magnetic resonance tomography of lumbosacral part of spine. *Vestnik novykh meditsinskikh tekhnologii* [Bulletin of new medical technologies], 2012, vol. 19, no. 1, pp. 192–195 (in Russian).

8. Tariciotti L., Palmisciano P., Giordano M., Remoli G., Lacorte E., Bertani G., Locatelli M., Dimeco F., Caccavella V. M., Prada F. Artificial intelligence-enhanced intraoperative neurosurgical workflow: current knowledge and future perspectives. *Journal of Neurosurgical Sciences*, 2022, vol. 66, no. 2, pp. 139–150. https://doi.org/10.23736/S0390-5616.21.05483-7

9. Buchlak Q. D., Esmaili N., Leveque J.-C., Farrokhi F., Bennett C., Piccardi M., Sethi R. K. Machine learning applications to clinical decision support in neurosurgery: an artificial intelligence augmented systematic review. *Neurosurgical Review*, 2020, vol. 43, no. 5, pp. 1235–1253. https://doi.org/10.1007/s10143-019-01163-8

10. Remov P. S., Mazurenko A. N., Makarevich S. V. Determination of surgical tactics for lumbar dorsopathies using software. *Traumatology and Orthopaedics of Kazakhstan*, 2021, no. 58 (Special issue), pp. 53–55 (in Russian).

11. Remov P. S., Mazurenko A. N., Makarevich S. V., Chumak N. A., Pustovoitov K. V. Comparative analysis of long-term results of surgical treatment of degenerative spondylolisthesis at the lumbar level. *Zdravookhranenie* [Healthcare], 2022, no. 9, pp. 51–58 (in Russian).

12. Kovalev E. V., Kirilenko S. I., Mazurenko A. N., Filyustin A. E., Dubrovskii V. V. Smartphone-assisted augmented reality technology for preoperative planning in spinal surgery. *Khirurgiya pozvonochnika* [Spine surgery], 2021, vol. 18, no. 3, pp. 94–99 (in Russian).

13. Lee S. H., Bae J. S. Comparison of clinical and radiological outcomes after automated open lumbar discectomy and conventional microdiscectomy: a prospective randomized trial. *International Journal of Clinical and Experimental Medicine*, 2015, vol. 8, no. 8, pp. 12135–12148.

14. Gorbachev S. V., Syryamkin V. I. *Neuro-fuzzy methods in intelligent systems of processing and analysis of multi-dimensional information*. Tomsk, Tomsk University Publishing House, 2014. 442 p. (in Russian).

15. Byval'tsev V. A., Kalinin A. A. Evaluation of the effectiveness of a decision support system in spinal neurosurgery for personalized use of minimally invasive technologies in the lumbar spine. *Sovremennye tekhnologii v meditsine* [Modern technologies in medicine], 2021, vol. 13, no. 5, pp. 13–23 (in Russian).

16. Wirries A., Geiger F., Hammad A., Oberkircher L., Blümcke I., Jabari S. Artificial intelligence facilitates decision making in the treatment of lumbar disc herniations. *European Spine Journal*, 2021, vol. 30, no. 8, pp. 2176–2184. https://doi.org/10.1007/s00586-020-06613-2

17. Campagner A., Berjano P., Lamartina C., Langella F., Lombardi G., Cabitza F. Assessment and prediction of spine surgery invasiveness with machine learning techniques. *Computers in Biology and Medicine*, 2020, vol. 121, art. 103796. https://doi.org/10.1016/j.compbiomed.2020.103796

18. Masalitina N. N., Kurochka K. S., Tsitko E. L. Mathematical model of decision making in the treatment of osteochondrosis of the lumbar spine. *Informatika* [Informatics], 2019, vol. 16, no. 1, pp. 24–37 (in Russian).

19. Rebrova O. Ju. Life cycle of a decision support system as medical technologies. *Vrach i informatsionnye tekhnologii* [Doctor and information technology], 2020, no. 1, pp. 27–37 (in Russian).

20. Kalinin A. A., Okoneshnikova A. K., Pestryakov Yu. Ya., Shepelev V. V., Byval'tsev V. A. Development of an algorithm for clinical and instrumental diagnosis of non-compressive lumbar pain syndromes to optimize the use of puncture surgical techniques. *Innovatsionnaya meditsina Kubani* [Innovative medicine of Kuban], 2020, no. 4, pp. 27–34 (in Russian).

Информация об авторах

Герасименко Михаил Александрович – член-корреспондент, д-р мед. наук, профессор, директор. Республиканский научно-практический центр травматологии и ортопедии (ул. Кижеватова, 60/4, 220024, г. Минск, Республика Беларусь). https://orcid.org/0000-0001-9151-0214. E-mail: kanc@ortoped.by

Мазуренко Андрей Николаевич – канд. мед. наук, доцент, заведующий отделением. Республиканский научно-практический центр травматологии и ортопедии (ул. Кижеватова, 60/4, 220024, г. Минск, Республика Беларусь). https://orcid.org/0000-0002-4883-5598. E-mail: mazurenko@mail.ru

Макаревич Сергей Валентинович – д-р мед. наук, доцент, гл. науч. сотрудник. Республиканский научно-практический центр травматологии и ортопедии (ул. Кижеватова, 60/4, 220024, г. Минск, Республика Беларусь). https://orcid.org//0000-0001-8225-4423. E-mail: sv.mak@mail.ru

Ремов Павел Сергеевич – мл. науч. сотрудник. Республиканский научно-практический центр травматологии и ортопедии (ул. Кижеватова, 60/4, 220024, г. Минск, Республика Беларусь). https://orcid.org/0000-0001-6060-5720. E-mail: neuro_ugokb2013@mail.ru

Косцов Максим Антонович – студент. Белорусский государственный медицинский университет (пр. Дзержинского, 83, 220116, г. Минск, Республика Беларусь). https://orcid.org/0000-0001-9821-7344. E-mail: kostsov.00@ mail.ru

Information about the authors

Mikhail A. Gerasimenko – Corresponding Member, D. Sc. (Med.), Professor, Director. Republican Scientific and Practical Center of Traumatology and Orthopedics (60/4, Kizhevatov Str., 220024, Minsk, Republic of Belarus). https://orcid.org/0000-0001-9151-0214. E-mail: kanc@ortoped.by

Andrey N. Mazurenko – Ph. D. (Med.), Associate Professor, Head of the Department. Republican Scientific and Practical Center of Traumatology and Orthopedics (60/4, Kizhevatov Str., 220024, Minsk, Republic of Belarus). https://orcid.org/0000-0002-4883-5598. E-mail: mazurenko@mail.ru

Sergey V. Makarevich – D. Sc. (Med.), Associate Professor, Chief Researcher. Republican Scientific and Practical Center of Traumatology and Orthopedics (60/4, Kizhevatov Str., 220024, Minsk, Republic of Belarus). https://orcid.org//0000-0001-8225-4423. E-mail: sv.mak@mail.ru

Pavel S. Remov – Junior Researcher. Republican Scientific and Practical Center of Traumatology and Orthopedics (60/4, Kizhevatov Str., 220024, Minsk, Republic of Belarus). https://orcid.org/0000-0001-6060-5720. E-mail: neuro_ugokb2013@mail.ru

Maksim A. Kostsov – student. Belarusian State Medical University (83, Dzerzhynski Ave., 220116, Minsk, Republic of Belarus). https://orcid.org/0000-0001-9821-7344. E-mail: kostsov.00@ mail.ru

ISSN 1814-6023 (Print)
ISSN 2524-2350 (Online)
УДК 616.8-013.395-018.46-097:616.15532/.37
https://doi.org/10.29235/1814-6023-2023-20-4-299-307

Поступила в редакцию 09.03.2023
Received 09.03.2023

А. С. Федулов[1], М. М. Зафранская[2], А. В. Борисов[1], Д. Б. Нижегородова[2], Н. А. Волкова[1], С. И. Кривенко[3], Т. А. Шалухо[1]

[1]Белорусский государственный медицинский университет, Минск, Республика Беларусь
[2]Белорусская медицинская академия последипломного образования, Минск, Республика Беларусь
[3]Минский научно-практический центр хирургии, трансплантологии и гематологии, Минск, Республика Беларусь

ВЛИЯНИЕ ТЕРАПИИ, ИЗМЕНЯЮЩЕЙ КЛИНИЧЕСКОЕ ТЕЧЕНИЕ РАССЕЯННОГО СКЛЕРОЗА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ПЕРЕСАДКИ АЛЛОГЕННЫХ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК, НА ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ ПАЦИЕНТОВ

Аннотация. Рассеянный склероз (РС) – мультифакториальное аутоиммунное хроническое заболевание центральной нервной системы, проявляющееся многоочаговой неврологической симптоматикой и имеющее в типичных случаях на ранних стадиях ремиттирующее течение. РС является одной из важнейших проблем современной неврологии, что обусловлено значительной распространенностью заболевания, преобладанием в возрастной структуре пациентов от 20 до 40 лет, а также высокой инвалидизацией. Основной мишенью терапевтических опций при РС является воздействие на иммунную систему с целью подавления воспалительного процесса, который приводит к демиелинизации. При использовании препаратов, позволяющих модифицировать клиническое течение РС (бета-интерферон, глатирамера ацетат, финголимод и др.), у 40 % пациентов отмечается хороший эффект, у 40 % – сомнительный, у 20 % нет ответа на лечение. Отсутствие оптимальных протоколов лечения РС, направленных на селективное подавление аутореактивных клонов Т-лимфоцитов и восстановление поврежденных участков ЦНС, объясняет все возрастающий интерес исследователей к использованию иммуномодулирующих и нейропротекторных свойств мезенхимальных стволовых клеток (МСК). Относительные преимущества аллогенной трансплантации МСК по сравнению с аутологичной широко обсуждаются, однако не приводятся объективные доказательства превосходства одного вида клеточной терапии над другим. В связи с этим вопрос об использовании аутологичных или аллогенных культур при лечении РС остается спорным.

Цель исследования – изучить влияние болезнь-модифицирующей терапии с применением аллогенных мезенхимальных стромальных стволовых клеток на иммунологические показатели пациентов с РС.

Оценена динамика ряда иммунологических биомаркеров 4 пациентов с рецидивно-ремиттирующим РС. Все пациенты мужчины. Медиана возраста – 35,0 ± 11,4 года. На период скрининга балл по шкале Expanded Disability Status Scale (EDSS) – 3,6 [2,5; 6,0]. Одновременно исследовали иммунологические и клеточно-морфологические показатели культур МСК, подготовленных из жировой ткани (ЖТ) 7 доноров. Из 7 образцов МСК ЖТ было выбрано 2 образца с наиболее высокими коэффициентами супрессии пролиферации Т-лимфоцитов, для которых было подобрано для терапии 4 биомедицинских клеточных продукта.

У пациентов с РС через 6 мес. после трансплантации наблюдались наиболее значимые изменения – уменьшение продукции γIFN, количества функционально незрелых «двойных позитивных» и «двойных негативных» Т-лимфоцитов и снижение цитотоксической направленности Т-лимфоцитов с γδТ-клеточным рецептором, характеризующейся увеличением количества клеток, экспрессирующих $CD45RO^+$ (маркер клеток-памяти), в сочетании со снижением количества γδTCR $CD314^+$ лимфоцитов (экспрессирующих ключевой активирующий киллерный рецептор).

Предварительные результаты исследования о влиянии пересадки аллоМСК на иммунологический статус пациентов с РС позволяют предположить, что введение этих клеток может использоваться в качестве нового метода патогенетической, болезнь-модифицирующей терапии при данной патологии.

Ключевые слова: аллогенные мезенхимальные стволовые клетки, болезнь-модифицирующая терапия, рассеянный склероз

Для цитирования: Влияние терапии, изменяющей клиническое течение рассеянного склероза с использованием пересадки аллогенных мезенхимальных стволовых клеток, на иммунологические показатели пациентов / А. С. Федулов [и др.] // Вес. Нац. акад. навук Беларусі. Сер. мед. навук. – 2023. – Т. 20, № 4. – С. 299–307. https://doi.org/10.29235/1814-6023-2023-20-4-299-307

Alexander S. Fedulov[1], Marina M. Zafranskaya[2], Alexey V. Borisov[1], Daria B. Nizhegorodova[2], Natalia A. Volkova[1], Svetlana I. Krivenko[3], Tina A. Shalukho[1]

[1]Belarusian State Medical University, Minsk, Republic of Belarus
[2]Belarusian Medical Academy of Postgraduate Education, Minsk, Republic of Belarus
[3]Minsk Scientific and Practical Center of Surgery, Transplantation and Hematology, Minsk, Republic of Belarus

IMPACT OF THE THERAPY THAT CHANGES THE CLINICAL COURSE OF MULTIPLE SCLEROSIS USING ALLOGENEIC MESENCHYMAL STEM CELL TRANSPLANTATION ON THE IMMUNOLOGICAL PARAMETERS OF PATIENTS

Abstract. Multiple sclerosis (MS) is a multifactorial, autoimmune, chronic disease of the nervous system, manifested by multifocal neurological symptoms and occurring in typical cases in the presence of symptoms of a relapsing course. MS is one of the problems of modern neurology, which is characterized by the prevalence of diseases, the prevalence of patients in the age group from 20 to 40 years, as well as high disability. The main target of therapeutic options in MS is the appearance on the immune system in order to suppress the inflammatory process leading to demyelination. With a set of drugs that allow clinically modifying the course of MS (beta-interferon, glatiramer acetate, fingolimod, etc.), 40 % of patients have a good effect, 40 % have a questionable result, and 20 % of patients with MS do not detect treatment. Lack of treatment protocols aimed at selective stimulatory suppression of autoreactive T-lymphocyte clones and restoration of affected areas of the CNS, weakening of the ever-increasing interest in identifying the immunomodulatory and neuroprotective properties of mesenchymal stem cells (MSCs). From carriers, the benefits of allogeneic versus autologous MSC implantation are widely discussed without the presence of objective evidence of the superiority of one type of cell therapy over the estimated and estimated fees of autologous or allogeneic transplants in obtaining MS remains controversial.

Objective – to study the effect of modifying therapy using allogeneic mesenchymal stromal stem cells on the immunological parameters of patients with multiple sclerosis.

The results of assessing the dynamics of a number of immunological biomarkers in 4 patients with relapsing-remitting MS. All patients are men. The median age is 35.0 + 11.4 years. At the screening period, the Expanded Disability Status Scale (EDSS) score was 3.6 [2.5; 6.0]. immunological and cellular-morphological parameters of MSC cultures were revealed, enhanced due to adipose tissue (AT) of 7 donors. Of the 7 samples of AT MSCs, 2 samples were selected with the highest coefficients of suppression of T-lymphocyte proliferation, of which 4 biomedical cell products should be taken for therapy.

In patients with MS, the most significant changes were observed by 6 months of the post-transplantation period and were characterized by a decrease in γIFN production, the number of functions of immature "double positive" and "double negative" T-lymphocytes, and a decrease in the cytotoxic orientation of T-lymphocytes with a γδ T-cell receptor characterized by characteristics of an increase in the number of cells expressing $CD45RO^+$ (memory cell marker) in an increase with a decrease in the number of γδTCR $CD314^+$ lymphocytes (expressive key activator of killer receptors).

Preliminary results from a study of transplantation of alloMSCs to the immunological status of MS patients suggest that they accept disease-modifying therapy in this application as pathogenetic, disease-modifying therapy.

Keywords: allogeneic mesenchymal stem cells, disease-modifying therapy, multiple sclerosis

For citation: Fedulov A. S., Zafranskaya M. M., Borisov A. V., Nizhegorodova D. B., Volkova N. A., Krivenko S. I., Shalukho T. A. Impact of the therapy that changes the clinical course of multiple sclerosis using allogeneic mesenchymal stem cell transplantation on the immunological parameters of patients. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya medytsynskikh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2023, vol. 20, no. 4, pp. 299–307 (in Russian). https://doi.org/10.29235/1814-6023-2023-20-4-299-307

Введение. Рассеянный склероз (РС) представляет собой аутоиммунное заболевание центральной нервной системы, характеризующееся нарушением баланса между регуляторными и потенциально миелин-реактивными клонами Т-лимфоцитов. В основе патогенеза заболевания лежат иммунологические процессы, связанные с нарушением регуляторной функции иммунной системы, активацией миелин-специфических клонов – $CD4^+$ и $CD8^+$ Т-лимфоцитов, а также с изменением профиля минорных (малых) популяций лимфоцитов периферической крови.

Развитие такого перспективного направления, как клеточная иммунотерапия РС, основывается на использовании иммуномодулирующих и нейропротективных свойств мезенхимальных/стромальных стволовых клеток. Способность мезенхимальных стволовых клеток (МСК) оказывать регуляторное/супрессорное влияние на аутоиммунный процесс и стимулировать ремиелинизацию позволяет рассматривать введение МСК в качестве нового метода терапии РС, модифицирующего течение заболевания. Однако эффект от введения МСК может значительно варьироваться в зависимости как от характеристики самих МСК, так и от состояния иммунной системы реципиента. Результаты клинических исследований по применению аутологичной трансплантации МСК у пациентов с РС указывают на ее эффективность и безопасность [1–5].

Основным направлением клеточной терапии при РС является применение высокодозной полихимиотерапии с последующей трансплантацией гемопоэтических стволовых клеток (ВХТ + аутоГСК) и мезенхимальных стромальных стволовых клеток (МССК). При этом при-

менение ВХТ + аутоГСК целесообразно для функциональной переустановки иммунной системы, а МСК – для использования иммуномодулирующих и нейротрофических свойств этих клеток.

Достаточное количество публикаций указывает на то, что по биологическим свойствам (дифференцировочный потенциал, экспрессия поверхностных антигенных маркеров и способность супрессировать Т-клеточный ответ) аутологичные и аллогенные культуры МСК пациентов с РС не отличаются от МСК здоровых доноров [6–8].

К преимуществам аллогенных МСК (аллоМСК) перед аутоМСК относят:

1) возможность использования аллоМСК у пациентов 3–4-й декады жизни, у которых снижается собственный общий пул стволовых клеток в различных компартментах организма;

2) отсутствие ограничений в заборе клеточного биоматериала, имеющихся при трансплантации аутоМСК (использование глюкокортикостероидов и других иммунодепрессантов и др.);

3) применение у пациентов, у которых не удается получить достаточное для эффективной трансплантации количество аутоМСК из-за особенностей строения костного мозга;

4) наличие потенциальной возможности в достижении необходимой для иммуномодулирующего эффекта клеточности трансплантата и др.

Изложенное выше особенно актуально для пациентов с РС, которые, как правило, на протяжении длительного времени получают иммуносупрессивную/болезнь-модифицирующую терапию: купирование экзацербаций глюкокортикостероидами; лечение в период ремиссии препаратами, изменяющими течение РС.

Цель исследования – изучить влияние болезнь-модифицирующей терапии с применением аллогенных мезенхимальных стволовых клеток на иммунологические показатели пациентов с рассеянным склерозом.

Материалы и методы исследования. Дизайн: проспективное, открытое, одноцентровое исследование.

Верификация диагноза и клинической формы заболевания. Динамика ряда иммунологических биомаркеров до и после клеточной терапии оценена у 4 пациентов с рецидивно-ремиттирующим РС. Для верификации диагноза и клинической формы заболевания использовали критерии McDonald с соавт. (2018 г.) и MAGNIMS (2021 г.). Все пациенты мужчины. Медиана возраста – 35,0 ± 11,4 года. На период скрининга балл по шкале Expanded Disability Status Scale (EDSS) – 3,6 [2,5; 6,0].

Предтрансплантационная подготовка биомедицинских клеточных продуктов (БМКП) – аллоМСК. Культуры МСК приготавливали из жировой ткани (ЖТ) 7 доноров. После механического измельчения ЖТ смешивали с равным объемом 0,06%-ного раствора коллагеназы I типа и инкубировали в течение 1 ч. После нейтрализации фермента и двух циклов центрифугирования клетки высевали в культуральные флаконы. Морфологию клеток исследовали методом фазово-контрастного микроскопирования. Жизнеспособность клеток определяли с помощью общепринятого метода исключения трипанового синего. Для идентификации МСК использовали следующую панель моноклональных антител: CD45PC7, CD34 APC, CD 105 PE, CD90 FITC, CD13 PE, CD 9 FITC, CD 44 PE (Beckman Coulter, США). Анализ образцов проводили на проточном цитофлуориметре FACSCanto (Becton Dickinson, США). Для криоконсервирования клеток процедуру замораживания проводили на замораживателе Planer Biomed (Великобритания), используя программу для гемопоэтических стволовых клеток. Одновременно исследовали иммунологические показатели культур МСК, подготовленных из ЖТ 7 доноров. Из 7 образцов МССК ЖТ было выбрано 2 образца с наиболее высокими коэффициентами супрессии пролиферации Т-лимфоцитов, для которых было подобрано для терапии 4 БМКП (табл. 1).

Таблица 1. **Характеристика подобранных для терапии БМКП**

Table 1. **Characteristics of BMCPs selected for therapy**

Пациент	Коэффициент супрессии, %	Кол-во клеток, $\times 10^6$	Кол-во клеток/кг массы тела пациента
1	62,6	167,5	2,36
2	84,1	188,5	2,31
3	33,5	240	2,87
4	51,4	210	2,8

При подготовке БМКП стерильность клеточного продукта проверяли на автоматизированном анализаторе BacT/ALERT 3D (Франция) с использованием факультативно-анаэробных сред на основе стриптиказо-соевого бульона. В ходе исследования проводилось тестирование на анаэробную и аэробную флору, а также на грибковые инфекции.

Выделение мононуклеаров периферической крови (МПК). МПК выделяли из цельной венозной крови путем центрифугирования (1500 об/мин) в течение 30 мин при 4 °С на градиенте плотности Histopaque-1077. МПК культивировали в полной питательной среде RPMI-1640 (Invitrogen, Великобритания), содержащей 10 % эмбриональной телячьей сыворотки (ЭТС), 2 ммоль L-глютамина, 1 % антибиотика-антимикотика. Все этапы получения и культивирования лимфоцитов проводили в стерильных условиях.

Культуральный метод. МПК пациентов с РС культивировали в концентрации $2 \cdot 10^5$ клеток/лунку 96-луночного круглодонного планшета в полной культуральной среде, содержащей 2,5 мкг/мл фитогемагглютинина (ФГА) (Sigma, Германия) или 10 мкг/мл рекомбинантного миелин-олигодендроцитарного гликопротеина с аминокислотной последовательностью 1–125 ($рМОГ_{1\text{-}125}$) (РНПЦ ТиМБ, Беларусь), в течение 6 дней (при митогенной стимуляции) и 10 дней (при миелиновой стимуляции) при 37 °С в атмосфере с 5%-ным содержанием CO_2. На 6-й день культивирования осуществляли замену половины культуральной среды с добавлением интерлейкина-2 (IL-2) (R&DSystems, США) в конечной концентрации 10 Ед/мл.

Внутриклеточная продукция γIFN методом проточной цитофлуориметрии. ФГА- и миелин-индуцированную продукцию γ-интерферона (γIFN) МПК оценивали через 3 дня ко-культивирования с БМКП аллоМСК. Для количественного определения уровня внутриклеточной продукции цитокинов за 4 ч до окончания культивирования добавляли 10 нг/мл форбол 12-миристат 13-ацетата (Sigma, Германия), 1 мкг/мл кальциевой соли иономицина (Cayman Chemicals, США) и 10 мкг/мл брефелдина А (Cayman Chemicals, США) с последующим окрашиванием МПК моноклональными антителами к поверхностным маркерам Т-лимфоцитов (CD3-FITC, Beckman Coulter, США) и дальнейшей фиксацией клеток в течение 10 мин 4%-ным раствором пара-формальдегида в физиологическом растворе. После отмывания клеток путем центрифугирования в течение 5 мин при 1500 об/мин к МПК добавляли моноклональные антитела γIFN-PE (Beckman Coulter, США), разведенные в 2%-ном Triton X-100 (Sigma, Германия). Учет результатов проводили на проточном цитометре CytoFlex на 10 000 Т-лимфоцитов.

Метод иммуноферментного анализа. Концентрацию γIFN определяли в 3-дневных супернатантах культур МПК пациентов с РС до пересадки аллоМСК, а также через 3 и 6 мес. после клеточной терапии методом твердофазного иммуноферментного анализа согласно инструкциям производителей с использованием коммерческого набора «ИФН-гамма-ИФА-БЕСТ» («Вектор-Бест», РФ). Результаты регистрировали на спектрофотометре Sunrise (Австрия) при $\lambda = 450$ нм.

Метод проточной цитофлуориметрии количественного анализа клеточного деления Т-лимфоцитов по включению CFSE. Для оценки пролиферативного ответа МПК перед культивированием клетки в концентрации $1 \cdot 10^7$ клеток/мл окрашивали флуоресцентным красителем карбоксифлуоресцеинсукцинилмидил эфиром (CFSE) (Sigma, Германия) в концентрации 7 мкМ в 1 мл культуральной среды RPMI-1640 в течение 5 мин в темноте при комнатной температуре. Реакцию окрашивания останавливали путем двукратного центрифугирования в холодной полной культуральной среде, содержащей RPMI-1640 с 25 ммоль HEPES, 2 ммоль L-глютамина, 1 % стрептомицина-пенициллина-неомицина (Sigma, Германия) и 10 % инактивированной ЭТС (Gibco, Германия).

Регистрацию количества пролиферирующих и непролиферирующих Т-лимфоцитов осуществляли методом проточной цитофлуориметрии с использованием МКАТ CD3-PC7 (Beckman Coulter, США). Для регистрации результатов использовали проточный цитометр FC500 (BeckmanCoulter, США) со средним объемом сбора 20 000 событий.

Для оценки пролиферативного ответа в соответствии с распределением флуоресценции устанавливали границы популяции $CD3^+$ Т-клеток среди живых лимфоцитов, в пределах которой выделяли процент непролиферирующих ($CFSE^{high}$) и пролиферирующих ($CFSE^{low}$) Т-клеток. Результат регистрировали при среднем объеме сбора 50 000 событий.

Для характеристики степени выраженности ингибирующего влияния клеточной терапии на пролиферацию Т-лимфоцитов использовали формулу расчета коэффициента супрессии пролиферативного ответа (k, %):

$$k = 100 - \frac{\Pi_{\text{Тп+МСК}} \cdot 100}{\Pi_{\text{Тп}}},$$

где $\Pi_{\text{Тп+МСК}}$ – относительное количество пролиферирующих Т-лимфоцитов в ко-культуре МПК и МСК или после клеточной терапии аллоМСК, стимулированной митогеном, %; $\Pi_{\text{Тп}}$ – относительное количество пролиферирующих Т-лимфоцитов в культуре МПК, стимулированной митогеном, % [6, 9, 10].

Для статистической обработки использовали стандартный пакет программ Statistica 8.0 (StatSoft Inc., США), для описательной статистики – показатели медианы, нижнего (25-й) и верхнего (75-й) процентилей. Статистически значимые различия между сравниваемыми группами определяли непараметрическими методами, используя *U*-критерий Манна–Уитни для независимых переменных и критерий Уилкоксона для зависимых групп.

Результаты и их обсуждение. ***Фенотипические показатели лимфоцитов периферической крови у пациентов с РС в динамике посттрансплантационного периода.*** Фенотипические показатели в динамике посттрансплантационного периода определяли у пациентов, прошедших клеточную терапию аллоМСК ЖТ в концентрации 187,0 (176,5–199,3) · 10^6 клеток (2,36 (2,34–2,53) · 10^6/кг), после *in vitro* определения оптимальных иммуномодулирующих свойств клеточных культур [10].

Относительное количество популяций/субпопуляций лимфоцитов периферической крови у пациентов с РС через 3 и 6 мес. после клеточной терапии представлено в табл. 2.

Т а б л и ц а 2. **Количество популяций/субпопуляций лимфоцитов периферической крови у пациентов с РС в динамике посттрансплантационного периода (Me (25–75 ‰)), %**

T a b l e 2. **Number of populations/subpopulations of peripheral blood lymphocytes in patients with MS in the dynamics of the post-transplant period (Me (25–75 ‰)), %**

Фенотип лимфоцитов	До клеточной терапии (1)	После клеточной терапии		*p*
		через 3 мес. (2)	через 6 мес. (3)	
$CD3^+$	75,5 (71,6–79,1)	74,2 (73,1–81,7)	77,0 (71,4–79,7)	Статистически незначимо
$CD3^+314^+$	45,0 (40,3–54,2)	44,9 (42,5–55,1)	55,1 (40,3–72,1)	Статистически незначимо
$CD3^+45RO^+$	62,0 (57,2–72,1)	62,1 (59,9–64,7)	67,0 (63,3–71,4)	Статистически незначимо
$CD3^+4^+$	53,6 (36,1–56,9)	57,4 (33,2–57,7)	57,9 (36,4–63,1)	Статистически незначимо
$CD3^+8^+$	39,2 (30,8–41,9)	34,1 (34,0–39,5)	34,7 (32,5–37,9)	Статистически незначимо
$CD4^+8^+$	1,28 (0,74–2,08)	1,19 (0,67–1,46)	0,78 (0,27–1,04)	$p_{1\text{-}3} = 0{,}043$
$CD4^-8^-$	7,32 (6,47–15,2)	6,9 (3,8–9,44)	7,0 (5,58–7,58)	Статистически незначимо
$CD19^+$	8,9 (8,0–14,0)	9,4 (8,4–13,8)	7,8 (3,4–12,3)	Статистически незначимо
$CD56^+$	11,9 (6,8–19,2)	8,9 (5,7–22,8)	11,5 (4,7–14,3)	Статистически незначимо
$CD56^+314^+$	93,1 (91,9–95,7)	77,5 (73,7–97,0)	92,4 (72,9–96,8)	Статистически незначимо
$CD3^+56^+$	1,7 (0,1–2,5)	1,1 (0,2–6,7)	2,7 (0,1–2,9)	Статистически незначимо
$CD56^+3^+$	9,2 (1,0–11,4)	7,1 (3,4–15,4)	6,9 (3,5–14,2)	Статистически незначимо
γδТ-клетки	7,2 (5,9–15,9)	7,1 (5,0–11,7)	6,9 (4,8–10,1)	Статистически незначимо
γδTCR $CD314^+$	91,6 (90,9–96,7)	83,9 (75,6–88,9)	93,8 (91,4–94,7)	$p_{1\text{-}2} = 0{,}046$ $p_{2\text{-}3} = 0{,}068$
γδTCR $CD45RO^+$	56,1 (33,9–76,8)	69,5 (44,1–83,3)	93,7 (89,2–94,2)	$p_{1\text{-}2} = 0{,}038$ $p_{1\text{-}3} = 0{,}021$

Наиболее значимые изменения наблюдались через 6 мес. после трансплантации и характеризовались изменением функционального статуса циркулирующих популяций лимфоцитов. Так, отмечалось снижение количества функционально незрелых «двойных позитивных» и «двойных негативных» Т-лимфоцитов. Кроме того, через 3 и 6 мес. после клеточной терапии установлено статистически значимое увеличение количества популяции Т-лимфоцитов с γδ Т-клеточным рецептором (γδTCR), экспрессирующих $CD45RO^+$, что отмечается при снижении цитотоксического потенциала данной минорной популяции клеток. Полученные результаты подтверждаются и снижением количества γδTCR $CD314^+$ лимфоцитов (через 3 мес. после клеточной терапии). Известно, что NKG2D-медиированный сигнал (CD314 (natural killer group 2 member D, NKG2D)) усиливает цитотоксичность киллерных клеток и продукцию провоспалительных цитокинов и хемокинов, что предполагает определенную роль NKG2D-лиганд взаимодействия в модулировании иммунного ответа и его дисрегуляции при развитии аутоиммунных и воспалительных заболеваний [11].

Продукция γIFN МПК пациентов с РС в динамике посттрансплантационного периода. Для объективного анализа способности МПК пациентов с РС продуцировать γIFN, являющегося основным цитокином Тх1 в индукции воспалительного процесса, реализующего эффекторные механизмы клеточного иммунитета, проведена оценка как внеклеточной, так и внутриклеточной продукции изучаемого цитокина в динамике посттрансплантационного периода. В табл. 3 представлена концентрация γIFN в супернатантах митоген/миелин-стимулированных МПК пациентов с РС после клеточной терапии БМПК аллоМСК. Через 6 мес. наблюдения отмечалось снижение концентрации γIFN в супернатантах клеточных культур при *in vitro* стимулировании миелиновым антигеном рМОГ.

Т а б л и ц а 3. **Концентрация γIFN в супернатантах митоген/миелин-стимулированных МПК у пациентов с РС после клеточной терапии аллоМССК (Me (25–75 ‰)), пг/мл**

T a b l e 3. **Concentration of γIFN in supernatants of mitogen/myelin-stimulated PBMCs in patients with MS after cell therapy with alloMSSCs (Me (25–75 ‰)), pg/ml**

Условия культивирования	До клеточной терапии (1)	После клеточной терапии		*p*
		через 3 мес. (2)	через 6 мес. (3)	
ФГА	1707,5 (1555,5–1736,0)	1640,0 (1170,1–1700,5)	1693,5 (1520,5–1763,0)	$p_{1-2} = 0{,}068$
$рМОГ_{1-125}$	2,5 (1,6–4,35)	2,32 (2,14–4,47)	2,05 (1,34–1,98)	$p_{2-3} = 0{,}048$

П р и м е ч а н и е. Здесь и в табл. 4: ФГА – культивирование в присутствии 2,5 мкг/мл ФГА; $рМОГ_{1-125}$ – культивирование в присутствии 10 мкг/мл рекомбинантного миелин-олигодендроцитарного гликопротеина.

Полученные результаты подтверждены данными по митоген/миелин-индуцированной внутриклеточной продукции γIFN Т-лимфоцитами, определяемой методом проточной цитометрии (табл. 4).

Т а б л и ц а 4. **Внутриклеточная митоген/миелин-стимулированнная продукция γIFN Т-лимфоцитами (количество CD3+γIFN+ клеток) у пациентов с РС после клеточной терапии аллоМССК (Me (25–75 ‰)), %**

T a b l e 4. **Intracellular mitogen/myelin-stimulated production of γIFN by T lymphocytes (number of CD3+γIFN+ cells) in patients with MS after cell therapy with alloMSCs (Me (25–75 ‰)), %**

Условия культивирования	До клеточной терапии (1)	После клеточной терапии		*p*
		через 3 мес. (2)	через 6 мес. (3)	
ФГА	43,9 (15,14–73,9)	16,06 (7,03–40,04)	26,5 (10,04–49,04)	$p_{1-2} = 0{,}038$ $p_{1-3} = 0{,}043$
$рМОГ_{1-125}$	7,83 (6,2–20,2)	7,03 (3,9–17,2)	5,1 (4,9–15,7)	$p_{1-3} = 0{,}048$

Количество интерферон-продуцирующих $CD3^+\gamma IFN^+$ клеток при миелиновой стимуляции у пациентов с РС через 6 мес. наблюдения также снижалось. Следует отметить и снижение количества $CD3^+\gamma IFN^+$ лимфоцитов при неспецифической стимуляции поликлональным митогеном через 3 мес. после трансплантации, что может оказывать влияние на противоинфекционную защиту со стороны иммунной системы.

Митоген-индуцированная пролиферация Т-лимфоцитов пациентов с РС после клеточной терапии БМКП аллоМССК. Для характеристики степени выраженности ингибирующего влияния клеточной терапии на пролиферацию Т-лимфоцитов у пациентов с РС проведен анализ *in vivo* коэффициентов супрессии пролиферативного ответа в сравнении с аналогичными показателями, предварительно полученными при *in vitro* исследовании (табл. 5).

Т а б л и ц а 5. **Коэффициенты супрессии (*k*) митоген-индуцированного пролиферативного ответа Т-лимфоцитов у пациентов с РС после клеточной терапии аллоМССК (Me (25–75 ‰)), %**

T a b l e 5. **Suppression coefficients (*k*) of the mitogen-induced proliferative response of T-lymphocytes in patients with MS after cell therapy with alloMSSCs (Me (25–75 ‰)), %**

Условия культивирования	До клеточной терапии (*in vitro* исследования) (1)	После клеточной терапии (*in vivo* исследования)		*p*
		через 3 мес. (2)	через 6 мес. (3)	
ФГА	61,3 (36,8–77,6)	3,68 (0,8–9,6)	6,13 (1,5–16,1)	$p_{1\text{-}2} = 0{,}025$ $p_{1\text{-}3} = 0{,}025$

П р и м е ч а н и е. ФГА – культивирование в присутствии 2,5 мкг/мл ФГА.

Через 6 мес. после клеточной терапии не наблюдалось выраженного ингибирования неспецифической пролиферации Т-лимфоцитов, характеризующей общее функциональное состояние клеток, что выражалось в низком коэффициенте супрессии (*k*) митоген-индуцированной пролиферации Т-лимфоцитов. Анализируемый показатель не достигал аналогичной величины и при исследовании *in vitro* ($k_{\text{ФГА 6 мес}}$ = 6,13 (1,5–16,1) %, $k_{\text{ФГА } in\ vitro}$ = 61,3 (36,8–77,6) %, p = 0,068, критерий W).

Полученные данные подтверждают выводы ряда авторов о том, что МСК не снижают уровень противоинфекционного иммунитета и обладают пластичностью по отношению к иммунной системе, что зависит от их способности отвечать на агонисты TLRs (toll-like receptors) в микроокружении и модифицировать иммуносупрессивные свойства, не препятствуя развитию иммунного ответа на определенные возбудители [12].

Заключение. Проведена оценка фенотипического состава МПК, внутри- и внеклеточной миелин-индуцированной продукции γIFN и митоген-стимулированной пролиферации Т-лимфоцитов у пациентов с РС через 3 и 6 мес. после клеточной терапии БМПК аллоМСК. Через 6 мес. после трансплантации наблюдались наиболее значимые изменения – уменьшение продукции γIFN, количества функционально незрелых «двойных позитивных» и «двойных негативных» Т-лимфоцитов и снижение цитотоксической направленности Т-лимфоцитов с γδТ-клеточным рецептором, характеризующейся увеличением количества клеток, экспрессирующих $CD45RO^+$, в сочетании со снижением количества γδTCR $CD314^+$ лимфоцитов. Выявленные изменения в количестве CD314-позитивных Т-лимфоцитов с γδ Т-клеточным рецептором у пациентов с РС после терапии аллоМСК предполагают определенную роль NKG2D-лиганд взаимодействия в модулировании иммунного ответа при развитии хронического воспалительного процесса.

У пациентов с РС в течение 6 мес. после клеточной терапии аллоМСК не происходит выраженного ингибирования функционального состояния Т-лимфоцитов на неспецифическую стимуляцию, что характеризует функциональную состоятельность клеток иммунной системы в отношении поддержания антигенного гомеостаза.

Таким образом, предварительные результаты изучения влияния клеточной терапии аллоМСК на иммунологический статус пациентов с РС позволяет предположить, что введение этих клеток может использоваться в качестве нового метода патогенетической, болезнь-модифицирующей терапии при данной патологии.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Благодарности. Научное исследование проведено при поддержке гранта Президента Республики Беларусь.

Acknowledgements. The research was carried out with the support of a grant from the President of the Republic of Belarus.

Список использованных источников

1. Клеточная терапия рассеянного склероза / А. С. Федулов [и др.]. – Минск : НиктаграфиксПлюс, 2018. – 242 с.

2. Сравнительная оценка эффективности однократного и курсового применения аутологичной трансплантации мезенхимальных стволовых клеток в терапии рассеянного склероза / А. С. Федулов [и др.] // РМЖ. Мед. обозрение. – 2019. – Т. 3, № 4–2. – С. 54–58.

3. Gugliandolo, A. Mesenchymal Stem Cells in Multiple Sclerosis: Recent Evidence from Pre-Clinical to Clinical Studies / A. Gugliandolo, P. Bramanti, E. Mazzon // Int. J. Mol. Sci. – 2020. – Vol. 21, N 22. – Art. 8662. https://doi.org/10.3390/ijms21228662

4. Safety and immunological effects of mesenchymal stem cell transplantation in patients with multiple sclerosis and amyotrophic lateral sclerosis / D. Karussis [et al.] // Arch. Neurol. – 2010. – Vol. 67, N 10. – P. 1187–1194. https://doi.org/10.1001/archneurol.2010.248

5. Paving the way towards an effective treatment for multiple sclerosis: advances in cell therapy / M. J. Mansilla [et al.] / Cell. Mol. Immunol. – 2021. – Vol. 18, N 6. – P. 1353–1374. https://doi.org/10.1038/s41423-020-00618-z

6. Зафранская, М. М. Эффект мезенхимальных стволовых клеток при клеточной терапии рассеянного склероза / М. М. Зафранская, А. С. Федулов, Ю. Е. Демидчик. – Минск : Беларус. навука, 2016. – 213 с.

7. Darlington, P. J. Harnessing the therapeutic potential of mesenchymal stem cells in multiple sclerosis / P. J. Darlington, M. N. Boivin, A. Bar-Or // Expert Rev. Neurother. – 2011. – Vol. 11, N 9. – P. 1295–1303. https://doi.org/10.1586/ern.11/113

8. Characterization of *in vitro* expanded bone marrow-derived mesenchymal stem cells from patients with multiple sclerosis / E. Mallam [et al.] // Mult. Scler. – 2010. – Vol. 16, N 8. – P. 909–918. https://doi.org/10.1177/1352458510371959

9. Иммунологический мониторинг пациентов с рассеянным склерозом после аутологичной трансплантации мезенхимальных стволовых клеток / М. М. Зафранская [и др.] // Иммунология. – 2015. – Т. 36, № 5. – С. 284–289.

10. Метод клеточной терапии рассеянного склероза: инструкция по применению: утв. М-вом здравоохр. Респ. Беларусь 27.12.2013 / А. С. Федулов [и др.]. – Минск, 2013. – 11 с.

11. Stojanovic, A. The NKG2D/NKG2DL Axis in the Crosstalk Between Lymphoid and Myeloid Cells in Health and Disease / A. Stojanovic, M. P. Correia, A. Cerwenka // Front. Immunol. – 2018. – Vol. 9. – Art. 827. https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.00827

12. Auletta, J. J. Emerging roles for multipotent, bone marrow-derived stromal cells in host defense / J. J. Auletta, R. Deans, A. Bartholomew // Blood. – 2012. – Vol. 119, N 8. – P. 1801–1809. https://doi.org/10.1182/blood-2011-10-384354

References

1. Fedulov A. S., Borisov A. V., Zafranskaya M. M., Marchenko L. N., Krivenko S. I., Kachan T. V., Dalidovich A. A. *Cell Therapy for Multiple Sclerosis*. Minsk, NiktagrafiksPlyus Publ., 2018. 242 p. (in Russian).

2. Fedulov A. S., Borisov A. V., Zafranskaya M. M., Krivenko S. I., Marchenko L. N., Kachan T. V., Moskovskikh Yu. V., Nizhegorodova D. B. Comparative evaluation of the efficiency of single and course use of autologous mesenchymal stem cell transplantation in the treatment of multiple sclerosis. *RMZh. Meditsinskoe obozrenie* [RMJ. Medical review], 2019, vol. 3, no. 4–2, pp. 54–58 (in Russian).

3. Gugliandolo A., Bramanti P., Mazzon E. Mesenchymal Stem Cells in Multiple Sclerosis: Recent Evidence from Pre-Clinical to Clinical Studies. *International Journal of Molecular Sciences*, 2020, vol. 21, no. 22, art. 8662. https://doi.org/10.3390/ijms21228662

4. Karussis D., Karageorgiou C., Vaknin-Dembinsky A., Gowda-Kurkalli B., Gomori J. M., Kassis I. [et al.]. Safety and immunological effects of mesenchymal stem cell transplantation in patients with multiple sclerosis and amyotrophic lateral sclerosis. *Archives of Neurology*, 2010, vol. 67, no. 10, pp. 1187–1194. https://doi.org/10.1001/archneurol.2010.248

5. Mansilla M. J., Presas-Rodríguez S., Teniente-Serra A., González-Larreategui I., Quirant-Sánchez B., Fondelli F. [et al.]. Paving the way towards an effective treatment for multiple sclerosis: advances in cell therapy. *Cellular & Molecular Immunology*, 2021, vol. 18, no. 6, pp. 1353–1374. https://doi.org/10.1038/s41423-020-00618-z

6. Zafranskaya M. M., Fedulov A. S., Demidchik Yu. E. *The effect of mesenchymal stem cells in cell therapy of multiple sclerosis*. Minsk, Belaruskaya navuka Publ., 2016. 213 p. (in Russian).

7. Darlington P. J., Boivin M. N., Bar-Or A. Harnessing the therapeutic potential of mesenchymal stem cells in multiple sclerosis. *Expert Review of Neurotherapeutics*, 2011, vol. 11, no. 9, pp. 1295–1303. https://doi.org/10.1586/ern.11/113

8. Mallam E., Kemp K., Wilkins A., Rice C., Scolding N. Characterization of *in vitro* expanded bone marrow-derived mesenchymal stem cells from patients with multiple sclerosis. *Multiple Sclerosis*, 2010, vol. 16, no. 8, pp. 909–918. https://doi.org/10.1177/1352458510371959

9. Zafranskaya M. M., Nizhegorodova D. B., Yurkevich M. Yu., Borisov A. V., Krivenko S. I., Ivanchik G. I., Kulinich S. S., Fedulov A. S. Immunological monitoring of patients with multiple sclerosis after autologous mesenchymal stem cell transplantation. *Immunologiya* [Immunology], 2015, vol. 36, no. 5, pp. 284–289 (in Russian).

10. Fedulov A. S., Zafranskaya M. M., Motuzova Ya. M., Nizhegorodova D. B., Krivenko S. I., Borisov A. V. [et al.]. *Method of cell therapy for multiple sclerosis: instructions for use: approved by the Ministry of Health of the Republic of Belarus on December 27, 2013.* Minsk, 2013. 11 p. (in Russian).

11. Stojanovic A., Correia M. P., Cerwenka A. The NKG2D/NKG2DL Axis in the Crosstalk Between Lymphoid and Myeloid Cells in Health and Disease. *Frontiers in Immunology*, 2018, vol. 9, art. 827. https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.00827

12. Auletta J. J., Deans R. J., Bartholomew A. M. Emerging roles for multipotent, bone marrow-derived stromal cells in host defense. *Blood*, 2012, vol. 119, no. 8, pp. 1801–1809. https://doi.org/10.1182/blood-2011-10-384354

Информация об авторах

Федулов Александр Сергеевич – д-р мед. наук, профессор, заведующий кафедрой. Белорусский государственный медицинский университет (пр. Дзержинского, 83, 220116, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: fedulov@tut.by

Зафранская Марина Михайловна – д-р мед. наук, доцент, вед. науч. сотрудник. Белорусская медицинская академия последипломного образования (ул. П. Бровки, 3/3, 220013, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: zafranskaya@gmail.com

Борисов Алексей Викторович – д-р мед. наук, профессор. Белорусский государственный медицинский университет (пр. Дзержинского, 83, 220116, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: al.borisov1974@gmail.com

Нижегородова Дарья Борисовна – канд. биол. наук, вед. науч. сотрудник. Белорусская медицинская академия последипломного образования (ул. П. Бровки, 3/3, 220013, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: nzh@tut.by

Волкова Наталья Анатольевна – ассистент. Белорусский государственный медицинский университет (пр. Дзержинского, 83, 220116, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: Volk2079@tut.by

Кривенко Светлана Ивановна – д-р мед. наук, профессор, гл. науч. сотрудник, заместитель директора. Минский научно-практический центр хирургии, трансплантологии и гематологии (ул. Семашко, 8, 220045, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: svtl_kr@tut.by

Шалухо Тина Александровна – ассистент. Белорусский государственный медицинский университет (пр. Дзержинского, 83, 220116, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: tinashalukho@mail.ru

Information about the authors

Alexander S. Fedulov – D. Sc. (Med.), Professor, Head of the Department. Belarusian State Medical University (83, Dzerzhinski Ave., 220116, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: fedulov@tut.by

Marina M. Zafranskaya – D. Sc. (Med.), Associate Professor, Leading Researcher. Belarusian Medical Academy of Postgraduate Education (3/3, P. Browka Str., 220013, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: zafranskaya@gmail.com

Alexey V. Borisov – D. Sc. (Med.), Professor. Belarusian State Medical University (83, Dzerzhinski Ave., 220116, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: al.borisov1974@gmail.com

Daria B. Nizhegorodova – Ph. D. (Biol.), Leading Researcher. Belarusian Medical Academy of Postgraduate Education (3/3, P. Browka Str., 220013, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: nzh@tut.by

Natalia A. Volkova – Assistant. Belarusian State Medical University (83, Dzerzhinski Ave., 220116, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: Volk2079@tut.by

Svetlana I. Krivenko – D. Sc. (Med.), Professor, Chief Researcher, Deputy Director. Minsk Scientific and Practical Center for Surgery, Transplantology and Hematology (8, Semashko Str., 220045, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: svtl_kr@tut.by

Tina A. Shalukho – Assistant. Belarusian State Medical University (83, Dzerzhinski Ave., 220116, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: tinashalukho@mail.ru

ISSN 1814-6023 (Print)
ISSN 2524-2350 (Online)
УДК 616-008.852:616-007.15:611.018.3/.4:611.77:577.213.6
https://doi.org/10.29235/1814-6023-2023-20-4-308-315

Поступила в редакцию 29.06.2023
Received 29.06.2023

Д. В. Букач[1], О. Л. Эйсмонт[1], М. П. Потапнев[2], В. И. Асаевич[2], П. В. Лицкевич[2], Ф. Н. Карпенко[2], С. И. Кривенко[3], В. Г. Богдан[4], В. В. Усов[5], К. Е. Хахелько[6]

[1]Республиканский научно-практический центр травматологии и ортопедии, Минск, Республика Беларусь
[2]Республиканский научно-практический центр трансфузиологии и медицинских биотехнологий, Минск, Республика Беларусь
[3]Минский научно-практический центр хирургии, трансплантологии и гематологии, Минск, Республика Беларусь
[4]Национальная академия наук Беларуси, Минск, Республика Беларусь
[5]6-я городская клиническая больница, Минск, Республика Беларусь
[6]Минская областная клиническая больница, Минский район, аг. Лесной, Республика Беларусь

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ АУТОЛОГИЧНОЙ ПЛАЗМЫ, ОБОГАЩЕННОЙ РАСТВОРИМЫМИ ФАКТОРАМИ ТРОМБОЦИТОВ, В СИМПТОМАТИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ ОСТЕОАРТРИТА КОЛЕННОГО СУСТАВА

Аннотация. Цель исследования – определить переносимость стандартизованной аутологичной плазмы, обогащенной растворимыми факторами тромбоцитов (ПОРФТ), при ее внутрисуставном введении и ее влияние на состояние пациентов с остеоартритом коленных суставов (КОА) по результатам анкетирования.

Пациенты с КОА получали стандартную медикаментозную терапию (n = 19) или дополнительно стандартизованную ПОРФТ аутологичную (аналог обогащенной тромбоцитами плазмы/platelet-rich plasma ОТП/PRP) (n = 21). Внутрисуставное введение 6 мл ПОРФТ аутологичной проводили трехкратно с интервалом в 2 недели. Оценивали безопасность введения, а также анкетировали пациентов с оценкой по шкалам ВАШ, WOMAC через 2 недели, 1 и 3 мес. от начала лечения.

Показано, что трехкратное внутрисуставное введение стандартизированной ПОРФТ аутологичной безопасно для пациента. При этом через 1 и 3 мес. снижались болевой синдром (оценка по шкале ВАШ), улучшалось функциональное состояние коленного сустава (оценка по шкале WOMAC). Все показатели были достоверно лучше, чем в контрольной группе пациентов.

Ключевые слова: плазма, обогащенная растворимыми факторами тромбоцитов/ПОРФТ, остеоартрит коленного сустава

Для цитирования: Использование аутологичной плазмы, обогащенной растворимыми факторами тромбоцитов, в симптоматической терапии остеоартрита коленного сустава / Д. В. Букач [и др.] // Вес. Нац. акад. навук Беларусі. Сер. мед. навук. – 2023. – Т. 20, № 4. – С. 308–315. https://doi.org/10.29235/1814-6023-2023-20-4-308-315

Dmitry V. Bukach[1], Oleg L. Eismont[1], Michael P. Potapnev[2], Vadim I. Asaevich[2], Pavel V. Litskevich[2], Fedor N. Karpenko[2], Svetlana I. Krivenko[3], Vasily G. Bogdan[4], Valery V. Vusau[5], Konstantin E. Hahelko[6]

[1]Republican Scientific and Practical Center of Traumatology and Orthopedics, Minsk, Republic of Belarus
[2]Republican Scientific and Practical Center of Transfusiology and Medical Biotechnologies, Minsk, Republic of Belarus
[3]Minsk Scientific and Practical Center for Surgery, Transplantation and Hematology, Minsk, Republic of Belarus
[4]National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus
[5]6th City Clinical Hospital, Minsk, Republic of Belarus
[6]Minsk Regional Clinical Hospital, Minsk district, ag. Lesnoy, Republic of Belarus

USE OF AUTOLOGOUS PLATELET-RICH PLASMA IN KNEE OSTEOARTHRITIS SYMPTOMATIC TREATMENT

Abstract. Among the conservative methods of treatment of osteoarthritis the use of plasma enriched with soluble platelet factors /platelet-rich plasma (PORFT/PRP) is becoming increasingly attractive.

The aim of the study was to determine the tolerability and effect of intra-articular administration of standardized autologous PRP on patients with knee osteoarthritis status based on the survey results. Patients with knee osteoarthritis (OA) received standard drug therapy (n = 19) or additionally standardized autologous platelet-rich plasma (PRP) (n = 21). Intra-articular injection of 6 ml of PRP was carried out three times every two weeks. The administration safety was assessed. Patients were questioned with an assessment of VAS and WOMAC scales in 2 weeks, 1 month and 3 months after starting the treatment. It was shown that three-time intra-articular administration of standardized autologous PRP was safe for a patient. At the same time, the pain syndrome decreased (VAS score) and the knee joint function improved (WOMAC score) after

1 and 3 months. All indicators were significantly better compared to the control group. We concluded that standardized autologous PORFT with three intra-articular injections is safe and has an analgesic effect and preserves the function of the knee joint already within 1–3 months of observation.

Keywords: plasma enriched in soluble platelet factors/PORFT, osteoarthritis of the knee

For citation: Bukach D. V., Eismont O. L., Potapnev M. P., Asaevich V. I., Litskevich P. V., Karpenko F. N., Krivenko S. I., Bogdan V. G., Vusau V. V., Hahelko K. E. Use of autologous platelet-rich plasma in knee osteoarthritis symptomatic treatment. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya medytsynskikh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2023, vol. 20, no. 4, pp. 308–315 (in Russian). https://doi.org/10.29235/1814-6023-2023-20-4-308-315

Введение. Многочисленные клинические исследования, проведенные за последние 10–15 лет, показали возможность внутрисуставного введения обогащенной тромбоцитами плазмы/platelet-rich plasma/плазмы, обогащенной растворимыми факторами тромбоцитов (ОТП/PRP/ПОРФТ) для лечения остеоартрита коленного сустава (КОА). Отмечено, что среди нехирургических методов лечения внутрисуставное введение ПОРФТ более эффективно снижает болевой синдром, улучшает функции суставов, снижает скованность, повышает качество жизни пациентов в сравнении с введением кортикостероидов или препаратов гиалуроновой кислоты. Применение ПОРФТ-терапии дает более длительный эффект – в течение 6–12 мес., хотя мало влияет на исход заболевания и не исключает необходимость в хирургическом лечении КОА [1–5]. Во многих исследованиях отмечена вариабельность клинических эффектов применения ПОРФТ-терапии, связанной прежде всего с отсутствием общепринятых стандартов ее получения, качества вводимого продукта и схем его применения [6, 7]. В то же время клиническое использование ПОРФТ-терапии у пациентов с остеоартритом (ОА) постоянно расширяется, и она начинает рассматриваться в качестве эффективной как на начальных, так и на более поздних стадиях развития заболевания с аналогичным клиническим результатом [8].

Цель исследования – определить переносимость стандартизованной аутологичной плазмы, обогащенной растворимыми факторами тромбоцитов, при ее внутрисуставном введении и ее влияние на состояние пациентов с остеоартритом коленных суставов (КОА) по результатам анкетирования.

Материалы и методы исследования. Работа выполнена на базе травматолого-ортопедических отделений государственного учреждения «Республиканский научно-практический центр травматологии и ортопедии» (ГУ РНПЦТО), учреждения здравоохранения «6-я городская клиническая больница» г. Минска (УЗ 6 ГКБ), учреждение здравоохранения «Минская областная клиническая больница» (УЗ МОКБ) в период с марта 2021 г. по май 2022 г. Применение ПОРФТ аутологичной было обсуждено и одобрено на заседаниях этических комитетов ГУ РНПЦТО (протокол № 2 от 16.03.2021 г.), УЗ 6 ГКБ (протокол № 9 от 24.06.2021 г.), УЗ МОКБ (протокол № 15 от 17 мая 2021 г.). Всего в исследование было включено 40 пациентов обоего пола с установленным диагнозом КОА I–III стадии по Kellgren и Lawrence.

Критерии включения в исследование: возраст пациентов от 18 до 65 лет, КОА I–III стадии по Kellgren и Lawrence, ежедневная боль при ходьбе и физических нагрузках, уровень тромбоцитов не менее $150 \cdot 10^9$/л, уровень лейкоцитов в крови в пределах $(4{,}0–9{,}0) \cdot 10^9$/л.

Критерии исключения из исследования: системные воспалительные заболевания в стадии обострения, системные иммунные заболевания или инфекции сустава, контрактура сустава, нестабильность сустава, осевые деформации сустава более 10°, внутрисуставное введение глюкокортикостероидов в течение последних 6 мес., прием нестероидных противовоспалительных и других средств в течение последних 48 ч, уровень тромбоцитов крови менее $150 \cdot 10^9$/л, уровень лейкоцитов крови более $9{,}0 \cdot 10^9$/л.

В соответствии с задачами исследования пациенты с КОА были распределены на две группы, сравнимые по возрасту и полу: в группу контроля (n = 19) вошли пациенты в возрасте 55,5 ± 5,96 (42; 65) года (соотношение мужчин и женщин 17 : 4); в группу исследования (n = 21) – пациенты в возрасте 53,5 ± 7,79 (36; 64) года (соотношение мужчин и женщин 1 : 18). Существенных различий по возрасту (p = 0,37) и соотношению мужчин и женщин не было (p = 0,19). Все пациенты получали стандартное лечение анальгетиками (парацетамол), нестероидными противовоспали-

тельными препаратами (НПВП) (нимесулид), хондропротекторами (глюкозамина сульфат/гидрохлорид, хондроитина сульфат); лечебную физкультуру, физиотерапию, кратковременно обеспечивались ортезами, надколенниками и т. д. Пациенты были информированы о том, что включение их в группу предполагает внутрисуставное введение изделия медицинского назначения «ПОРФТ аутологичная» производства государственного учреждения «Республиканский научно-практический центр трансфузиологии и медицинских биотехнологий» (ГУ «РНПЦ ТиМБ»). Процедуру внутрисуставного введения ПОРФТ аутологичной проводили после получения подписанного пациентами информированного согласия. Пациенты группы исследования направлялись в РНПЦ ТиМБ, где после сдачи общего анализа крови и обследования на ВИЧ, вирусные гепатиты В и С, сифилис у них производили забор 400 мл крови. Дозу крови, стабилизированной консервирующим раствором ACDA, фракционировали и получали около 50 мл тромбоцитов, из которых приготавливали ПОРФТ (как изделие медицинского назначения «Плазма, обогащенная растворимыми факторами тромбоцитов, аутологичная ТУ BY 190572781.050-2022»). Стандартизированную ПОРФТ аутологичную после прохождения контроля качества в РНПЦ ТиМБ отпускали в организации по месту лечения пациентов для внутрисуставного введения в условиях процедурного кабинета в объеме 6 мл ПОРФТ аутологичной 3 раза каждые 2 недели.

Состояние пациентов оценивали на этапе включения в исследование, а также через 2 недели, 1 и 3 мес. после введения ПОРФТ аутологичной. Путем опроса оценивали интенсивность болевого синдрома в коленном суставе (по шкале ВАШ) и функциональное состояние коленного сустава (оценка боли, скованности и функции по шкале WOMAC), подсчитывали количество баллов.

Статистическая обработка данных. Данные представлены как средние значения параметров ± стандартное отклонение (M ± SD), минимальное и максимальное значения. Достоверность различий между параметрами оценивали при $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение. Проведение терапии КОА с использованием аутологичной ПОРФТ сопровождалось субъективным чувством «заполнения» полости сустава, проходящим в течение нескольких часов после инъекции. Редко (у 3 (14,1 %) пациентов) при проведении первых инъекций ПОРФТ аутологичной отмечалась болевая реакция в области сустава, проходящая самостоятельно в течение суток без дополнительного медикаментозного вмешательства.

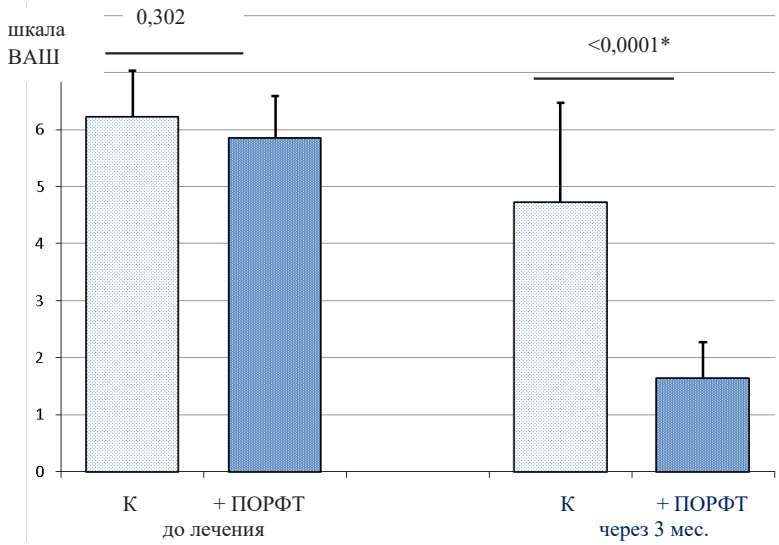


Рис. 1. Сравнительная характеристика болевого синдрома по шкале ВАШ у пациентов с остеоартритом коленного сустава в группе контроля (К, *n* = 21) и в группе исследования (+ПОРФТ, *n* = 18) до и через 3 мес. после проведения консервативной терапии с использованием ПОРФТ аутологичной

Fig. 1. Comparative characteristics of the pain syndrome according to the VAS scale in patients with knee osteoarthritis of the control group (K, *n* = 21) and the study group (+PRP, *n* = 18) before and 3 months after conservative therapy using autologous PRP-therapy

В остальных случаях переносимость терапии была удовлетворительная, без выраженных реакций и осложнений в течение всего времени наблюдения.

Болевой синдром является ведущим клиническим проявлением ОА, поэтому нами в первую очередь была проведена его оценка по шкале ВАШ в разные сроки наблюдения. Как видно на рис. 1, после проведенного курса лечения (через 3 мес. после первой из трех инъекций ПОРФТ) боли в коленном суставе при ходьбе значительно уменьшились, в то время как у пациентов группы контроля, получавших стандартную медикаментозную терапию, уменьшение болевого синдрома наблюдалось в значительно меньшей степени. Как следует из табл. 1, снижение болевого синдрома наблюдалось у пациентов обеих групп. При этом в контрольной группе уровень болевого синдрома по результатам консервативного лечения снизился на 24,1 % от исходного, а в группе контроля – на 82 % от исходного ($p << 0{,}0001$). Введение ПОРФТ аутологичной приводило к достаточно выраженному терапевтическому эффекту уже в ранние сроки – через 0,5 и 1 мес. после начала терапии. Болевой синдром продолжал снижаться к 3-му месяцу наблюдения за пациентами группы исследования, в то время как в контрольной группе в эти сроки он стабилизировался и даже стал возрастать.

Оценка активности заболевания (функциональное состояние коленного сустава) по шкале WOMAC выявило аналогичную картину. Как видно на рис. 2, через 3 мес. после начала внутрисуставного введения ПОРФТ аутологичной активность заболевания снизилась на 61,3 %, в то время как у пациентов группы контроля, получавших медикаментозную терапию, – на 25 % ($p << 0{,}0001$). Разница между показателями активности заболевания у пациентов обеих групп начинала проявляться уже через 2 недели после введения ПОРФТ аутологичной и прогрессивно возрастала через 1 и 3 мес. наблюдения (табл. 2).

Группы пациентов с КОА, получавших или не получавших внутрисуставно ПОРФТ аутологичную, сравнивали также по клиническому состоянию пациентов. Как видно из табл. 3, через 3 мес. после терапии КОА улучшение наблюдалось как у пациентов группы контроля, так и у пациентов группы исследования, при этом внутрисуставное введение ПОРФТ аутологичной приводило к более выраженному улучшению клинического состояния пациентов по сравнению с пациентами, получавшими только медикаментозную терапию ($p = 0{,}00025$).

Учитывая прогрессирующее течение КОА, приводящего к тяжелой стадии заболевания и необходимости эндопротезирования суставов, большое внимание уделяется консервативному лечению и возможности отсрочить операцию [7]. При лечении ОА для внутрисуставного введения используют стероидные препараты, гиалуроновую кислоту, ОТП/PRP/ПОРФТ [8, 9]. При этом, по результатам сравнительных исследований, более высокая терапевтическая эффективность ПОРФТ при оценке по шкалам ВАШ, WOMAC, KOOS была при сроках наблюдения 6 и 12 мес. PRP/ПОРФТ рассматривают как аутологичный препарат, приготовленный из крови пациента. В то же время известно, что такой препарат не может быть стандартизован как по исходному

Т а б л и ц а 1. **Выраженность болевого синдрома по шкале ВАШ у пациентов с остеоартритом коленного сустава в процессе лечения с использованием ПОРФТ аутологичной**

T a b l e 1. **Pain syndrome level according to the VAS scale in patients with knee osteoarthritis during autologous PRP-therapy**

Группа пациентов	Выраженность болевого синдрома, баллы			
	через 0 мес. (1)	через 0,5 мес. (2)	через 1 мес. (3)	через 3 мес. (4)
Контроль (К)	6,22 ± 0,81 (4–8) (n = 18)	5,17 ± 0,72 (4–6) (n = 12) $p_{2\text{-}3} = 0{,}001$	4,08± 0,67 (3–5) (n = 12) $p_{2\text{-}4} << 0{,}0001$	4,72 ± 1,67 (2 – 8) (n = 18) $p_{2\text{-}5} = 0{,}0016$
Исследование (И) (+ПОРФТ) (n = 21)	5,86 ± 1,28 (2–8) $p_{1к\text{-}1и} = 0{,}3$	4,24 ± 1,22 (2–7) $p_{1\text{-}2} = 0{,}0001$ $p_{2К\text{-}2И} < 0{,}0001$	2,52 ± 0,93 (0–4) $p_{1\text{-}3} << 0{,}0001$ $p_{3К\text{-}3И} << 0{,}000$	1,64 ± 0,69 (0–3) $p_{1\text{-}4} << 0{,}0001$ $p_{4К\text{-}4И} << 0{,}0001$

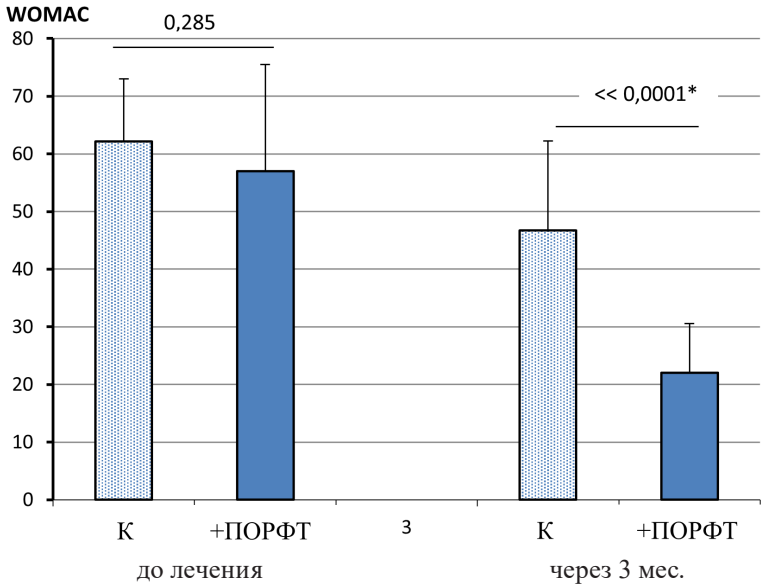


Рис. 2. Сравнительная характеристика функционального состояния по шкале WOMAC у пациентов с остеоартритом коленного сустава в группе контроля (К, *n* = 21) и в группе исследования (+ПОРФТ, *n* = 18) до и через 3 мес. после проведения консервативной терапии с использованием ПОРФТ аутологичной

Fig. 2. Comparative characteristics of the functional state according to the WOMAC scale in patients with knee osteoarthritis of the control group (K, *n* = 21) and the study group (+PRP, *n* = 18) before and 3 months after conservative therapy using autologous PRP-therapy

Т а б л и ц а 2. **Динамика функционального состояния коленного сустава по шкале WOMAC в процессе терапии с использованием ПОРФТ**

T a b l e 2. **Dynamics of knee functional state according to WOMAC scale during PRP-therapy**

Группа пациентов	Активность заболевания по шкале WOMAC, баллы			
	через 0 мес. (1)	через 0,5 мес. (2)	через 1 мес. (3)	через 3 мес. (4)
Контроль (К)	62,26 ± 10,84 (31–74) (*n* = 19)	58,927 ± 4,37 (51–67) (*n* = 13) $p_{2\text{-}3} = 0{,}3$	51,54 ± 6,12 (40–59) (*n* = 13) $P_{2\text{-}4} = 0{,}003$	46,74 ± 15,51 (21–78) (*n* = 19) $p_{2\text{-}5} = 0{,}001$
Исследование (И) (+ПОРФТ) (*n* = 21)	57,0 ± 18,46 (5–75) $p_{2К\text{-}2И} = 0{,}285$	46,48 ± 16,08 (3–66) $p_{2\text{-}3} = 0{,}055$ $p_{К\text{-}3И} < 0{,}011$	30,95 ± 12,6 (0–50) $p_{2\text{-}4} << 0{,}0001$ $p_{4К\text{-}4И} << 0{,}0001$	22,05 ± 8,47 (0–35) $p_{2\text{-}5} << 0{,}0001$ $p_{5К\text{-}5И} << 0{,}0001$

Т а б л и ц а 3. **Динамика клинического состояния пациентов с остеоартритом коленного сустава в процессе терапии с использованием ПОРФТ**

T a b l e 3. **Dynamics of the patients' clinical state with osteoarthritis of the knee joint during PRP-therapy**

Группа пациентов	Активность заболевания, баллы	
	через 0 мес. (1)	через 3 мес. (2)
Контроль (К) (*n* = 19)	16,32 ± 0,82 (15–18)	15,32 ± 0,95 (14–17) $p_{1\text{-}2} = 0{,}013$
Исследование (И) (+ПОРФТ) (*n* = 21)	16,1 ± 0,94 (15–18) $p_{2К\text{-}2И} = 0{,}437$	14,19 ± 0,81 (13–15) $p_{1\text{-}2} << 0{,}0001$ $p_{2К\text{-}2И} = 0{,}00025$

материалу (сырью) – периферической крови, так и по конечным параметрам, обеспечивающим во всех случаях благоприятный терапевтический эффект [10, 11]. Из этого следует, что для получения эффективного препарата PRP/ПОРФТ подходит периферическая кровь менее 50 % пациентов. Факторами, снижающими или отменяющими терапевтическое действие препарата PRP/ПОРФТ, являются: сниженное (менее $1 \cdot 10^{12}$/л) или повышенное (более $2 \cdot 10^{12}$/л) содержание тромбоцитов в препарате; повышенное содержание лейкоцитов (нейтрофилов), «сдвиг влево» как результат наличия «юных» форм нейтрофилов; признаки системного воспаления (наличие С-реактивного белка в крови) в периферической крови пациента; длительная история заболевания; высокая активность патологического процесса; пожилой возраст пациентов (более 60 лет). Приготовление аутологичной ПОРФТ без учета указанных признаков не обеспечивает терапевтическую активность, характерную для PRP/ПОРФТ [12]. Альтернативным подходом при наличии противопоказаний или ограничений для приготовления ПОРФТ аутологичной может являться ПОРФТ аллогенная, получаемая от здоровых лиц молодого возраста.

Полученные результаты показали, что аутологичная ПОРФТ у пациентов с ОА не вызывает реакций и осложнений при внутрисуставном введении и эффективно устраняет/ослабляет признаки воспаления – уже через 1 мес. после первой (из трех последовательных) инъекций. При этом терапевтический эффект ПОРФТ характеризуется стабилизацией воспалительного процесса и уменьшением болевого синдрома в течение не менее 3 мес., в то время как медикаментозная терапия оказывает временный и менее выраженный терапевтический эффект. Полученные нами данные совпадают с результатами других наблюдений о безопасности и клинической эффективности применения PRP/ПОРФТ, что в большинстве случаев позволяет достоверно снизить болевой синдром, сохранить в течение 6–12 мес. двигательную активность коленных суставов и отсрочить потребность в хирургическом лечении [2, 8, 9, 12].

Заключение. Стандартизированная ПОРФТ аутологичная может быть использована для многократного внутрисуставного введения пациентам для терапии остеоартрита коленных суставов. Применение ПОРФТ позволяет добиться обезболивающего эффекта в ранние сроки, сохранить двигательную активность, предохранить от быстрого прогрессирования остеоартрита сустава.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Благодарности. Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства здравоохранения Республики Беларусь (проект № 20192192 от 23.08.19).

Acknowledgements. The work was carried out with the financial support from the Ministry of Health of the Republic of Belarus (project No. 20192192 dated of 08.23.19).

Список использованных источников

1. Каратеев, А. Е. Остеоартрит: современная клиническая концепция и некоторые перспективные терапевтические подходы / А. Е. Каратеев, А. М. Лила // Науч.-практ. ревматол. – 2018. – Т. 56, N 1. – С. 70–81.

2. PRP injections for the treatment of knee osteoarthritis: a meta-analysis of randomized controlled trials / G. Filardo [et al.] // Cartilage. – 2021. – Vol. 13, suppl. 1. – P. 364S–375S. https://doi.org/10.1177/1947603520931170

3. How does platelet-rich plasma compare clinically to other therapies in the treatment of knee osteoarthritis? A systemic review and meta-analysis / L. A. V. Costa [et al.] // Am. J. Sport Med. – 2022. – Vol. 51, N 4. – P. 1074–1086. https://doi.org/10.1177/03635465211062243

4. Kim, J.-H. Are leukocyte-poor or multiple injections of platelet-rich plasma more effective than hyaluronic acid for knee osteoarthritis? A systemic review and meta-analysis of randomized controlled trials / J.-H. Kim, Y.-B. Park, C.-W. Ha // Arch. Orthop. Trauma Surg. – 2022. – Vol. 143, N 7. – P. 3879–3897. https://doi.org/10.1007/s00402-022-04637-5

5. Современные аспекты применения плазмы, обогащенной растворимыми факторами тромбоцитов, в лечении травм и заболеваний опорно-двигательного аппарата / М. П. Потапнев [и др.] // Спорт. медицина: наука и практика. – 2019. – Т. 9, № 4. – С. 33–45.

6. Andia, I. Platelet-rich plasma for managing pain and inflammation in osteoarthritis / I. Andia, N. Maffulli // Nat. Rev. Rheumatol. – 2013. – Vol. 9. – P. 721–730. https://doi.org/10.1038/nrrheum.2013.141

7. Cook, C. S. Clinical update: why PRP should be your first choice for injection therapy in treating osteoarthritis of the knee / C. S. Cook, P. A. Smith // Cur. Rev. Musculoskel. Med. – 2018. – Vol. 11. – P. 583–592. https://doi.org/10.1007/s12178-018-9524-x

8. The use of platelet-rich plasma in studies with early knee osteoarthritis versus advanced stages of the disease: a systematic review and meta-analysis of 31 randomized clinical trials / F. Vilchez-Cavazos [et al.] // Arch. Orthopaed. Trauma Surg. – 2022. – Vol. 143, N 3. – P. 1393–1408. https://doi.org/10.1007/s00402-021-04304-1

9. Platelet rich plasma injections for knee osteoarthritis treatment: a prospective clinical study / L. Moretti [et al.] // J. Clin. Med. – 2022. – Vol. 11, N 9. – Art. 2640. https://doi.org/10.3390/jcm11092640

10. Плазма крови, обогащенная растворимыми факторами тромбоцитов: получение, стандартизация, медицинское применение / М. П. Потапнев [и др.] // Здравоохранение. – 2018. – № 10. – С. 38–44.

11. Возможности аутодонорства крови при получении плазмы, обогащенной растворимыми факторами тромбоцитов, для лечения диабетических язв кожи / М. П. Потапнев [и др.] // Мед. журн. – 2016. – № 2. – С. 91–94.

12. Andia, I. A contemporary view of platelet-rich plasma therapies: moving toward refined clinical protocols and precise indications / I. Andia, N. Maffulli // Regen. Med. – 2018. – Vol. 13, N 6. – P. 717–728. https://doi.org/10.2217/rme-2018-0042

References

1. Karateev A. E., Lila A. M. Osteoarthritis: current clinical concept and some promising therapeutic approaches. *Nauchno-prakticheskaya revmatologiya* [Rheumatology science and practice], 2018, vol. 56, no. 1, pp. 70–81 (in Russian).

2. Filardo G., Previtali D., Napoli F., Candrian C., Zaffagnini S., Grassi A. PRP injections for the treatment of knee osteoarthritis: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Cartilage*, 2021, vol. 13, suppl. 1, pp. 364S–375S. https://doi.org/10.1177/1947603520931170

3. Costa L. A. V., Lenza M., Irrgang J. J., Fu F. H., Ferretini M. How does platelet-rich plasma compare clinically to other therapies in the treatment of knee osteoarthritis? A systemic review and meta-analysis. *American Journal of Sports Medicine*, 2022, vol. 51, no. 4, pp. 1074–1086. https://doi.org/10.1177/03635465211062243

4. Kim J.-H., Park Y.-B., Ha C.-W. Are leukocyte-poor or multiple injections of platelet-rich plasma more effective than hyaluronic acid for knee osteoarthritis? A systemic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Archives of Orthopaedic and Trauma Surgery*, 2022, vol. 143, no. 7, pp. 3879–3897. https://doi.org/10.1007/s00402-022-04637-5

5. Potapnev M. P., Zagorodnyi G. M., Krivenko S. I., Bogdan V. G., Svirskii A. O., Yasyukevich A. S., Asaevich V. I., Bukach D. V., Eismont O. L. Modern aspects of the use of plasma enriched in soluble platelet factors in the treatment of injuries and diseases of the musculoskeletal system. *Sportivnaya meditsina: nauka i praktika* [Sports medicine: research and practice], 2019, vol. 9, no. 4, pp. 33–45 (in Russian).

6. Andia I., Maffulli N. Platelet-rich plasma for managing pain and inflammation in osteoarthritis. *Nature Reviews Rheumatology*, 2013, vol. 9, pp. 721–730. https://doi.org/10.1038/nrrheum.2013.141

7. Cook C. S., Smith P. A. Clinical update: why PRP should be your first choice for injection therapy in treating osteoarthritis of the knee. *Current Reviews in Musculoskeletal Medicine*, 2018, vol. 11, pp. 583–592. https://doi.org/10.1007/s12178-018-9524-x

8. Vilchez-Cavazos F., Blazquez-Saldana J., Gamboa-Alonso A., Pena-Martinez V., Acosta-Olivo C., Sanchez-Garcia A., Simental-Mendia M. The use of platelet-rich plasma in studies with early knee osteoarthritis versus advanced stages of the disease: a systematic review and meta-analysis of 31 randomized clinical trials. *Archives of Orthopaedic and Trauma Surgery*, 2022, vol. 143, vol. 3, pp. 1393–1408. https://doi.org/10.1007/s00402-021-04304-1

9. Moretti L., Maccagnano G., Coviello M., Cassano G. D., Franchini A., Laneve A., Moretti B. Platelet rich plasma injections for knee osteoarthritis treatment: a prospective clinical study. *Journal of Clinical Medicine*, 2022, vol. 11, no. 9, art. 2640. https://doi.org/10.3390/jcm11092640

10. Potapnev M. P., Krivenko S. I., Bogdan V. G., Kosmacheva S. M., Shlyaga O. L., Karpenko F. N. Platelet-rich derived plasma: manufacture and medical application. *Zdravookhranenie* [Healthcare], 2018, no. 10, pp. 38–44 (in Russian).

11. Potapnev M. P., Kondratenko G. G., Troyanov A. A., Karman A. D., Krivenko S. I., Nazarova E. A., Levandovskaya O. V. Blood autodonation possibilities for platelet-rich plasma preparation to treat diabetic foot ulcers. *Meditsinskii zhurnal* [Medical journal], 2016, no. 2, pp. 91–94 (in Russian).

12. Andia I., Maffulli N. A contemporary view of platelet-rich plasma therapies: moving toward refined clinical protocols and precise indications. *Regenerative Medicine*, 2018, vol. 13, no. 6, pp. 717–728. https://doi.org/10.2217/rme-2018-0042

Информация об авторах

Букач Дмитрий Вячеславович – канд. мед. наук, вед. науч. сотрудник. Республиканский научно-практический центр травматологии и ортопедии (ул. Кижеватова, 60/4, 220024, г. Минск, Республика Беларусь). https://orcid.org/0000-0001-6076-3761. E-mail: dzmitry.bukach@gmail.com

Эйсмонт Олег Леонидович – д-р мед. наук, доцент, заведующий лабораторией. Республиканский научно-практический центр травматологии и ортопедии (ул. Кижеватова, 60/4, 220024, г. Минск, Республика Беларусь). https://orcid.org/0000-0002-1002-4132. E-mail: oleismont@tut.by

Потапнев Михаил Петрович – д-р мед. наук, профессор, заведующий отделом. Республиканский научно-практический центр трансфузиологии и медицинских биотехнологий (Долгиновский тракт, 160, 220053, г. Минск, Республика Беларусь). https://orcid.org/0000-0002-6805-1782. E-mail: mpotapnev@yandex.by

Information about the authors

Dmitry V. Bukach – Ph. D. (Med.), Senior Researcher. Republican Scientific and Practical Center of Traumatology and Orthopedics (60/4, Kizhevatov Str., 220024, Minsk, Republic of Belarus). https://orcid.org/0000-0001-6076-3761. E-mail: zmitry.bukach@gmail.com

Oleg L. Eismont – D. Sc. (Med.), Associate Professor, Head of the Laboratory. Republican Scientific and Practical Center of Traumatology and Orthopedics (60/4, Kizhevatov Str., 220024, Minsk, Republic of Belarus). https://orcid.org/0000-0002-1002-4132. E-mail: oleismont@tut.by

Michael P. Potapnev – D. Sc. (Med.), Associate Professor, Head of the Department. Republican Scientific and Practical Center of Transfusiology and Medical Biotechnologies (160, Dolginovsky Tract, 220053, Minsk, Republic of Belarus). https://orcid.org/0000-0002-6805-1782. E-mail: mpotapnev@yandex.by

Асаевич Вадим Игоревич – мл. науч. сотрудник. Республиканский научно-практический центр трансфузиологии и медицинских биотехнологий (Долгиновский тракт, 160, 220053, г. Минск, Республика Беларусь). https://orcid.org/0000-0002-2257-6452.

Лицкевич Павел Владимирович – мл. науч. сотрудник. Республиканский научно-практический центр трансфузиологии и медицинских биотехнологий (Долгиновский тракт, 160, 220053, г. Минск, Республика Беларусь). https://orcid.org/0009-0000-3687-1930.

Карпенко Федор Николаевич – канд. мед. наук, директор. Республиканский научно-практический центр трансфузиологии и медицинских биотехнологий (Долгиновский тракт, 160, 220053, г. Минск, Республика Беларусь). https://orcid.org/0009-0009-7890-5495.

Кривенко Светлана Ивановна – д-р мед. наук, доцент, заместитель директора. Минский научно-практический центр хирургии, трансплантологии и гематологии (ул. Семашко, 8, 220087, г. Минск, Республика Беларусь). https://orcid.org/0000-0002-6813-4465.

Богдан Василий Генрихович – д-р мед. наук, профессор, академик-секретарь Отделения мед. наук. Национальная академия наук Беларуси (пр. Независимости, 66, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). https://orcid.org/0000-0001-7849-6497. E-mail: medic@presidium.bas-net.by

Усов Валерий Валерьевич – заведующий отделением. 6-я городская клиническая больница (ул. Уральская, 5, 220037, г. Минск, Республика Беларусь). https://orcid.org/0009-0000-8791-2229.

Хахелько Константин Евгеньевич – заведующий отделением. Минская областная клиническая больница (223041, Минский район, аг. Лесной). https://orcid.org/0009-0003-4676-9827.

Vadim I. Asaevich – Junior Researcher. Republican Scientific and Practical Center of Transfusiology and Medical Biotechnologies (160, Dolginovsky Tract, 220053, Minsk, Republic of Belarus). https://orcid.org/0000-0002-2257-6452.

Pavel V. Litskevich – Junior Researcher. Republican Scientific and Practical Center of Transfusiology and Medical Biotechnologies (160, Dolginovsky Tract, 220053, Minsk, Republic of Belarus). https://orcid.org/0009-0000-3687-1930.

Fedor N. Karpenko – Ph. D. (Med.), Director. Republican Scientific and Practical Center of Transfusiology and Medical Biotechnologies (160, Dolginovsky Tract, 220053, Minsk, Republic of Belarus). https://orcid.org/0009-0009-7890-5495.

Svetlana I. Krivenko – D. Sc. (Med.), Associate Professor, Deputy Director. Minsk Scientific and Practical Center for Surgery, Transplantation and Hematology (8, Semashko Str., 220087, Minsk, Republic of Belarus). https://orcid.org/0000-0002-6813-4465.

Vasily G. Bogdan – D. Sc. (Med.), Professor, Academician-secretary of the Department of Medical Sciences. National Academy of Sciences of Belarus (66, Nezavisimosti Ave., 220072, Minsk, Republic of Belarus). https://orcid.org/0000-0001-7849-6497. E-mail: medic@presidium.bas-net.by

Valery V. Vusau – Head of the Department. 6th City Clinical Hospital (5, Uralskaya Str., 220037, Minsk, Republic of Belarus). https://orcid.org/0009-0000-8791-2229.

Konstantin E. Hahelko – Head of the Department. Minsk Regional Clinical Hospital (223041, Minsk district, ag. Lesnoy). https://orcid.org/0009-0003-4676-9827.

ISSN 1814-6023 (Print)
ISSN 2524-2350 (Online)
УДК 612.83-07:616.711.-007.5
https://doi.org/10.29235/1814-6023-2023-20-4-316-325

Поступила в редакцию 10.02.2023
Received 10.02.2023

И. А. Ильясевич[1], Е. В. Сошникова[1], Д. К. Тесаков[1], В. А. Кульчицкий[2], И. С. Хомушко[1]

[1]Республиканский научно-практический центр травматологии и ортопедии, Минск, Республика Беларусь
[2]Центр мозга Института физиологии НАН Беларуси, Минск, Республика Беларусь

НЕЙРОФИЗИОЛОГИЧЕСКИЙ ПОДХОД В ОЦЕНКЕ ФУНКЦИЙ СПИННОГО МОЗГА ПРИ КИФОТИЧЕСКОЙ ДЕФОРМАЦИИ ПОЗВОНОЧНИКА

Аннотация. Выполнен анализ результатов комплексного (клинико-лучевого и нейрофизиологического) исследования, проведенного в двух клинических группах пациентов (n = 64) с кифотической деформацией позвоночника II–IV степени тяжести грудного и поясничного отделов позвоночника различной этиологии. С прогрессированием кифотической деформации позвоночника в патологический процесс вовлекается спинной мозг (СМ), находящийся внутри позвоночного канала. Этому периоду нарушения функций предшествует состояние скрытых изменений СМ, не выявляемых клинически (продромальный период). Наличие неврологических нарушений рассматривается как фактор повышенного риска интра- и послеоперационных осложнений при хирургическом лечении кифоза. На основании регистрации и анализа параметров соматосенсорных вызванных потенциалов и моторных ответов при транскраниальной магнитной стимуляции выявлены электрофизиологические признаки сенсомоторной недостаточности нервных трактов СМ, которые коррелируют с величиной кифотической дуги. Установленные электрофизиологические критерии позволяют верифицировать уровень проводникового поражения на уровне грудных и поясничных сегментов СМ, определять его тяжесть, проводить мониторинг восстановительных процессов и прогнозировать функциональный исход.

Ключевые слова: кифотическая деформация грудного и поясничного отделов позвоночника, спинной мозг, соматосенсорный вызванный потенциал, моторный ответ, транскраниальная магнитная стимуляция

Для цитирования: Нейрофизиологический подход в оценке функций спинного мозга при кифотической деформации позвоночника / И. А. Ильясевич [и др.] // Вес. Нац. акад. навук Беларусі. Сер. мед. навук. – 2023. – Т. 20, № 4. – С. 316–325. https://doi.org/10.29235/1814-6023-2023-20-4-316-325

Inessa A. Ilyasevich[1], Elena V. Soshnikova[1], Dmitriy K. Tesakov[1], Vladimir A. Kulchitsky[2], Irina S. Khomushka[1]

[1]Republican Scientific and Practical Center of Traumatology and Orthopedics, Minsk, Republic of Belarus
[2]Brain Centre of the Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus

NEUROPHYSIOLOGICAL APPROACH TO THE ASSESSMENT OF SPINAL CORD FUNCTION IN KYPHOTIC SPINAL DEFORMITY

Abstract. The results of a comprehensive (clinical-radiological and neurophysiological) study performed in two clinical groups of patients (n = 64) with kyphotic spinal deformity of II–IV degree of severity of the thoracic and lumbar spine of various etiologies were analysed. With the progression of kyphotic spine deformity, the spinal cord (SC) located inside the spinal canal becomes involved in the pathological process. This period of dysfunction is preceded by a state of latent SM changes that are not detected clinically (prodromal period). The presence of neurological disorders is considered as a factor of increased risk of intra- and postoperative complications in the surgical treatment of kyphosis. Based on the registration and analysis of the parameters of somatosensory evoked potentials and motor responses during transcranial magnetic stimulation, electrophysiological signs of sensorimotor insufficiency of the SC nerve tracts were revealed, which correlate with the kyphotic arch value. The established electrophysiological criteria allow to verify the level of conductive lesion at the level of thoracic and lumbar SC segments, to determine its severity, to monitor recovery processes and to predict the functional outcome.

Keywords: kyphotic deformity of the thoracic and lumbar spine, spinal cord, somatosensory evoked potentials, motor evoked potentials, transcranial magnetic stimulation

For citation: Ilyasevich I. A., Soshnikova E. V., Tesakov D. K., Kulchitsky V. A., Khomushka I. S. Neurophysiological approach to the assessment of spinal cord function in kyphotic spinal deformity. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya medytsynskikh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2023, vol. 20, no. 4, pp. 316–325 (in Russian). https://doi.org/10.29235/1814-6023-2023-20-4-316-325

Введение. Среди искривлений позвоночника особое внимание уделяют кифотическим деформациям в силу прогрессирования этой патологии у пациентов всех стран мира. К классической кифотической деформации позвоночника как ортопедической патологии относят болезнь Шейермана (М42.0, согласно Международной статистической классификации болезней и проблем, связанных со здоровьем, 10-го пересмотра). Заболевание относится к остеохондропатиям, развивается в процессе физиологического роста человека (чаще всего в детском подростковом периоде) и связано с на-

рушением апофизарного энхондрального роста тел позвонков. В связи с этим встречаются и другие названия данной болезни – ювенильный остеохондроз, ювенильный кифоз, патологический кифоз. По статистике рассматриваемая патология в различных вариантах проявляется у 0,4–8,3 % населения планеты, а среди ортопедических деформаций позвоночника стоит на втором месте после лидирующего идиопатического сколиоза, при котором в ряде случаев (развитие агрессивных прогрессирующих форм) может отмечаться также выраженный кифотический компонент [1, 2].

Нарушение функционального единства структур позвоночного канала и спинного мозга (СМ) сопровождается развитием очаговых и дистантных нарушений спинного и головного мозга. Нейродеструктивные изменения СМ возникают при широком спектре патологических изменений позвоночного канала – полисегментарном стенозе, сколиозе III–IV степени, врожденной аномалии развития позвоночника, кифотической деформации в грудном и грудопоясничном отделах. Основой вертеброгенных нарушений СМ являются процессы компрессии нервных и сосудистых структур, которые приводят к чувствительным, двигательным и вегетативным расстройствам.

Патобиомеханической составляющей прогрессирующего кифоза любой этиологии является вовлечение в деформационный процесс всего позвоночного столба с нарушением сагиттального спинального баланса (уравновешенности). Нарастание кифотической деформации позвоночника приводит не только к обезображивающему изменению формы туловища. Параллельно в патологический процесс вовлекается СМ, находящийся внутри позвоночного канала, что клинически уже на ранних стадиях искривления сопровождается болевым синдромом и слабостью нижних конечностей. Этому периоду нарушения функций предшествует состояние скрытых изменений СМ, которые обычно не выявляются при общем осмотре пациентов [2, 3].

При прогрессирующем увеличении дуги грудного кифоза происходит поэтапное развитие компрессионно-ишемической миелопатии. В случаях грубых кифозов СМ подвергается растяжению над костным выступом, сформированным на передней стенке позвоночного канала, выбирая самый короткий путь – через зону деформации. При этом СМ, плотно прилегающий к дорсальной поверхности тел позвонков, подвергается компрессионному воздействию с дорсальной стороны за счет твердой мозговой оболочки (*dura mater*). При нарастании флексии, особенно если кифоз угловой, увеличивается натяжение *dura mater*, которая смещает СМ к задней поверхности позвонков [1, 4]. Комбинация компрессии СМ и тракции дурального мешка негативно отражается на кровоснабжении нервных структур. Совокупность вышеуказанных факторов, влияющих на развитие неврологической симптоматики и динамики кифотической деформации, является показанием для хирургического лечения [2, 5].

После устранения хирургическим способом вертебро-медуллярного конфликта происходит функциональное восстановление нервных структур. На этапе разработки показаний, объема и тактики хирургического вмешательства ведущим методом, прецизионно характеризующим состояние СМ, является структурная МРТ. В случаях несоответствия данных клинического наблюдения и нейровизуализации, а также при полисегментарном поражении позвоночника затруднительно определить локализацию доминирующего очага СМ [6–8]. Для выявления нарушений функций нервной системы наряду с лучевой диагностикой применяются методы функциональной диагностики: мультимодальных вызванных потенциалов (зрительных, акустических, соматосенсорных) и моторных ответов (МО) при транскраниальной магнитной стимуляции (ТМС), позволяющих по данным электрофизиологических критериев верифицировать уровень проводникового поражения, определять его тяжесть, проводить мониторинг восстановительных процессов и прогнозировать функциональные исходы [6, 9–11]. В отличие от классической электромиографии, которая дает оценку функции периферического нервно-мышечного аппарата, преимуществом методов компьютерной электрофизиологии является возможность получения количественной информации о функциональном состоянии глубоколежащих нервных структур мозга, не оказывая травматического воздействия на органы и ткани пациента.

В клинике дегенеративных поражений позвоночника нейрофизиологические методы применяют в основном для диагностики спинальных нарушений в области шейного и поясничнокрестцового утолщения СМ [12–15]. Указанные сегменты методически наиболее доступны и разработаны для стимуляции и регистрации вызванных потенциалов и МО. Обоснованием для внедрения этих методов послужило наличие крупных нервных стволов (срединного, локтевого, большеберцового), выходящих на поверхность мышц верхних и нижних конечностей, с иннер-

вацией от различных сегментов СМ, что формирует естественные условия для прецизионного тестирования соответствующих сегментарных структур [16, 17].

Функционально-анатомическим отличием грудного отдела СМ (*Th1–Th12*) является отсутствие нервных сплетений и диффузный характер иннервации мышц туловища разветвленными окончаниями грудных спинномозговых нервов. Поэтому проводимость нервных трактов СМ в грудном отделе у пациентов с миелопатией или осложненной травмой позвоночника оценивают по данным сравнительного анализа параметров МО и соматосенсорных вызванных потенциалов (ССВП), зарегистрированных в одной и той же мышце или нервном проводнике при стимуляции центральных нервных структур на двух уровнях: выше и ниже грудных сегментов СМ [16–18]. Описанные в литературе попытки регистрации МО в мышцах туловища показали низкий уровень специфичности полученных данных вследствие мультисегментарной иннервации мышц туловища [19, 20].

Сведения научной литературы, касающиеся нейрофизиологической оценки функционального состояния СМ при анатомических вариантах кифотической деформации позвоночника, содержат результаты единичных наблюдений, что затрудняет обобщение и анализ данных по этой актуальной проблеме [21].

Цель исследования – разработать информативные нейрофизиологические подходы для оценки функций нервных проводников спинного мозга при кифотической деформации грудного и поясничного отделов позвоночника.

Материалы и методы исследования. *Методология клинического обследования пациентов с кифотическими деформациями позвоночника.* Для определения особенностей развития деформационной патологии у пациентов изучали анамнестические данные, жалобы, относящиеся к деформационному поражению позвоночника, сведения о наличии болевого вертеброгенного синдрома, особенности физиологического развития пациента, наличие сопутствующих патологий, перенесенных заболеваний и травм.

Клинический осмотр предусматривал визуальную оценку пациента без одежды согласно общепринятым ортопедическим требованиям. Сагиттальный контур спины осматривался у пациента сбоку в положении стоя и/или сидя с последующим наклоном туловища и приданием функциональных поз сгибания и разгибания позвоночника. При этом учитывали конституционные особенности тела, туловища (спина с воротниковой зоной, грудная клетка, область живота и тазового кольца) и конечностей; состояние осанки и ее функциональный самоконтроль пациентом; наличие признаков дизрафического статуса, синдрома дисплазии соединительной ткани, эндокринных нарушений; форму рельефа поверхности туловища и зон его структуральных изменений; состояние пластической анатомии туловища с позиции его пропорциональности.

По этиопатогенезу кифотической деформации позвоночника пациентов распределили на две группы. В I группу вошли 104 пациента с деформациями на почве ювенильного остеохондроза (болезнь Шейермана). Первичное клиническое проявление патологии у пациентов I группы, согласно данным анамнеза, отмечено в возрасте 10–14 лет. Оно заключалось в появлении умеренных болей в спине при нахождении в вертикальном положении (стоя и/или сидя), исчезавших в горизонтальном положении или при создании разгрузочного вытяжения (вис на руках на перекладине или шведской стенке). Параллельно с болевым синдромом отмечено развитие нарушения осанки в виде заметной сутулости, которая принимала стойкий и ригидный характер. С нарастанием выраженности (тяжести) кифотической деформации отмечено нарушение формы и пропорциональности отделов туловища, а также формирование диспропорциональности в соотношении длины туловища и конечностей.

Группа II включала 39 пациентов с деформациями, спровоцированными врожденной аномалией развития позвоночника (ВАРП) в виде нарушения сегментации, конкресценции и формы позвонков с наличием кифозогенных клиновидных и/или бабочковидных позвонков.

Первичное клиническое проявление патологии, отмеченное на первом году жизни, заключалось в наличии участка ригидной деформации спины в грудном и/или поясничном отделе. Болевой функциональный синдром исходно не отмечен. С увеличением роста пациента наблюдалось развитие нарушения осанки в сагиттальной плоскости с появлением сутулости, которая принимала стойкий и ригидный характер. С нарастанием выраженности кифотической деформации наблюдалось нарушение формы и пропорциональности отделов туловища, а также формирова-

ние диспропорциональности в параметрах длины туловища и длины конечностей. У 26 пациентов с возрастом, особенно к пред- и пубертатному периоду, отмечалось постепенное проявление неврологической спинальной переднероговой симптоматики.

Нейрофизиологическое исследование. Задачей нейрофизиологической диагностики у пациентов с кифотической деформацией позвоночника являлась количественная оценка изменений функционального состояния СМ. Алгоритм исследования включал комплекс электрофизиологических методик, позволяющих оценивать функции системы проводников СМ и дифференцировать спинальные и радикулярные нарушения.

Состояние нисходящих моторных путей СМ и двигательных корешков нижнегрудных и поясничных спинномозговых нервов оценивали по данным транскраниальной и сегментарной/корешковой магнитной стимуляции (ТМС и КМС соответственно). Магнитный индуктор располагали в проекции моторной зоны коры головного мозга, являющейся корковым представительством мышц нижних конечностей. Для стимуляции корешков спинномозгового нерва магнитную катушку ориентировали над остистым отростком соответствующего позвонка в поясничной области. Регистрировали МО мышц бедра, голени и стопы (*mm. quadriceps*, *extensor hallucis longus*, *abductor hallucis*). Время центрального моторного проведения (ВЦМП) импульса на участке пояснично-крестцовых сегментов СМ рассчитывали как разность латентных периодов МО, зарегистрированных в одной и той же мышце при последовательном проведении ТМС и КМС [17]. Латентное время сегментарных МО расценивали как критерий корешковой моторной проводимости.

Для оценки проводимости восходящих путей СМ осуществляли регистрацию ССВП при электрическом раздражении *n. tibialis* в области медиальной лодыжки. Использовали стандартную схему регистрации вызванных потенциалов [16] на двух уровнях: спинальном (*N22*) и корковом (*P38–N45*). Анализировали амплитуду ССВП (мкВ), латентный период (мс) и время центрального афферентного проведения (*CCT – central conductive time*, *N22–P38*, мс).

Цифровые данные обрабатывали методом вариационной статистики с применением программы Microsoft Excel. Для оценки значимости выявленных различий использовали параметрические тесты. Цифровые данные представлены средним арифметическим и стандартным отклонением (M ± m).

Оборудование: цифровая электрофизиологическая установка Nicolet Viking Select (Nicolet Biomedical, США) в комплексе с магнитным стимулятором Magstim-200 (Magstim Company Ltd, Великобритания). Комплекс компьютерный многофункциональный «Нейро-МВП» в комплексе с магнитным стимулятором «Нейро-МС» («Нейрософт», РФ).

Результаты и их обсуждение. Для объективизации функционального состояния СМ у 44 пациентов с болезнью Шейермана и у 20 пациентов с кифотической деформацией на почве ВАРП проведено нейрофизиологическое обследование с количественной оценкой проводимости системы нервных трактов СМ в грудном и грудопоясничном отделах. Контрольную группу составили 20 здоровых лиц аналогичного возраста.

Клинико-лучевая характеристика пациентов с кифотической деформацией позвоночника в выборках двух групп, отобранных для электрофизиологического обследования. Анатомическую локализацию поражений среднегрудного отдела позвоночника в выборке I группы определяли у 22 пациентов, нижнегрудного – у 14, грудопоясничного – у 8. У всех пациентов с кифотической деформацией отмечено формирование структуральных сколиотических дуг различной локализации. При этом патологические среднегрудные кифозы сопровождались сколиотическими грудопоясничными искривлениями. При нижнегрудных и грудопоясничных кифозах определялись комбинированные (двойные) сколиотические деформации (верхняя грудная и нижняя грудопоясничная и/или поясничная). Сколиотические дуги (4–24°) у таких пациентов по выраженности относились к I–II степени.

По данным радиологического обследования, в зависимости от тяжести кифотической деформации позвоночника в грудном отделе пациенты I группы распределились следующим образом: II степень (средняя – 41–50°) – 16 (36 %) человек; III (выраженная – 51–70°) – 18 (41 %); IV (сильно выраженная – от 70 до 113°) – 10 (23 %). Дуги патологического кифоза в грудопоясничном отделе составили от 25 до 49°.

Изучение клинико-лучевых данных указывало на прямое вовлечение в патологический кифотический процесс СМ, который из-за нарушения формы и параметров сагиттального контура

позвоночного канала находился в условиях деформирующего компримирования и натяжения. Это дополнительно активировало процесс развития деформации, свидетельствуя о специфичности клинического проявления патологии.

У пациентов II группы величина дуги патологического кифоза в грудном отделе на боковых рентгенограммах позвоночника, выполненных в положении стоя, составила от 44 до 108°. Дуги патологического кифоза в поясничном отделе составили от 25 до 49°. По данным нейровизуализации, признаки компрессии нервных структур СМ на уровне кифотической деформации позвоночника выявлены у 3 пациентов. С возрастом, особенно к пред- и пубертатному периоду, у 4 человек отмечено постепенное проявление неврологической спинальной симптоматики в форме нижнего вялого или спастического парапареза.

Результаты нейрофизиологического исследования функций спинного мозга у пациентов с кифотической деформацией позвоночника. Анализ данных нейрофизиологического материала, полученного в двух группах пациентов с кифотической деформацией позвоночника (n = 64), позволил выявить и оценить признаки сенсомоторной недостаточности СМ. Изучение параметров ССВП показало, что у всех пациентов форма и латентное время спинальных и кортикальных ССВП были изменены. Амплитуда ССВП значительно уменьшена (более 50 %), латентное время ССВП и показатель *CCT* достоверно увеличены в 85 % случаев. У 9 (20,5 %) пациентов с болезнью Шейермана III–IV степени кифоза выявлено аномальное изменение формы ССВП, что не позволило четко определить количественные параметры вызванного потенциала. Данные ССВП, зарегистрированные у пациентов с кифозом позвоночника, свидетельствовали об общем выраженном снижении афферентной функции восходящих нервных трактов, локализованных в дорсальных отделах СМ.

Количественный анализ параметров МО при ТМС выявил у пациентов с грудным кифозом общее уменьшение средних значений амплитуды кортикальных МО по сравнению с контролем. Относительная вариабельность амплитуды МО, зарегистрированных у разных пациентов, объяснялась не только неодинаковой степенью дуги деформации и выраженностью клинических признаков заболевания, но и зависимостью от возраста и индивидуальных свойств нервно-мышечной системы. Поэтому особенностью амплитуды МО являлась высокая чувствительность в сочетании со сниженной специфичностью.

В отличие от амплитуды, изменения латентного времени МО и кортикального ССВП (*P38*), величины индексов ВЦМП и *CCT* показали закономерное и достоверное увеличение времени сенсомоторного проведения импульса в системе нервных трактов СМ у пациентов обеих групп (табл. 1).

Статистический анализ временных значений кортикальных МО и ССВП в выборках I и II групп свидетельствовал о специфичности указанных показателей для оценки изменений сенсомоторной функции СМ при кифотической деформации позвоночника.

На рис. 1 графически представлено изменение центральной сенсорной (*CCT*) и центральной моторной (ВЦМП) проводимости СМ у пациентов с кифотической деформацией позвоночника по сравнению с контролем.

Как видно из рис. 1, средние показатели времени проведения возбуждения по моторным и чувствительным нервным трактам СМ у пациентов с кифозом увеличены по сравнению с контролем. Распределение отклонений параметров ССВП, как и параметров МО, соответствовало локализации доминирующего нарушения функции на центральных участках восходящих и нисходящих нервных трактов СМ, где снижение проводимости по сравнению с контролем достигало 30–40 %. Суммарное снижение проводимости на всем протяжении нервного пути от коры головного мозга до мышцы-индикатора или периферического нерва, включающего центральные и периферические участки проведения возбуждения, определялось в пределах от 5,5 до 16 %.

Изучение параметров сегментарного МО, зарегистрированного при КМС в поясничной области, показало, что выраженные изменения латентности определялись у 30 % пациентов с локализацией деформации позвоночника, преимущественно в нижнегрудной или поясничной области.

У 70 % обследованных пациентов выявленные изменения сегментарного МО характеризовались уменьшением амплитуды без нарушения латентности. Эти данные свидетельствовали о преобладании аксонального типа нарушения функции в процессе формирования моторной недостаточности корешков пояснично-крестцовых сегментов СМ. Оценку сегментарной сенсорной проводимости пояснично-крестцовых корешков рассчитывали по данным латентного времени

Т а б л и ц а 1. **Электрофизиологическая характеристика сенсомоторной функции спинного мозга у пациентов с кифотической деформацией позвоночника**

T a b l e 1. **Electrophysiological characteristics of the sensorimotor function of the spinal cord in patients with kyphotic spinal deformity**

Параметр	Контроль	I группа	II группа
Амплитуда МО при ТМС, мВ	2,6 ± 0,5	1,4 ± 0,9*	0,9 ± 0,4*
Латентное время МО при ТМС, мс	38,0 ± 2,0	44,1 ± 3,8*	43,4 ± 2,4*
Латентное время МО при КМС, мс	21,9 ± 2,4	22,3 ± 2,4	23,1 ± 2,7
ВЦМП, мс	16,2 ± 1,7	21,5 ± 2,1*	21,8 ± 2,9*
Латентное время *P38*, мс	38,5 ± 2,4	43,3 ± 2,1*	43,0 ± 1,6*
Латентное время *N22*, мс	21,8 ± 1,8	22,9 ± 2,5	23,6 ± 2,6
CCT, мс	15,6 ± 1,6	21,5 ± 2,7*	22,0 ± 1,6*

П р и м е ч а н и е: * – достоверные изменения параметров по сравнению с контролем при $p < 0,05$ по *t*-критерию Стьюдента; I – группа пациентов с болезнью Шейермана ($n = 44$); II – группа пациентов с врожденной аномалией развития позвоночника и кифотическим компонентом ($n = 20$); МО – моторный ответ; ТМС – транскраниальная магнитная стимуляция; КМС – корешковая (сегментарная) магнитная стимуляция; ВЦМП – время центрального моторного проведения импульса; *CCT (central conduction time)* – время центрального афферентного проведения импульса.

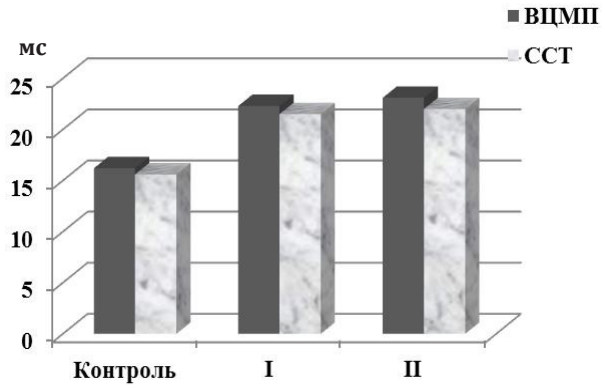


Рис. 1. Средние значения ВЦМП (мс) и ССТ (мс) у пациентов с различными формами кифотической деформации позвоночника (I – группа пациентов с болезнью Шейермана–Мау; II – группа пациентов с врожденной аномалией развития позвоночника с кифотическим компонентом)

Fig. 1. Characterization of the CMCT and CCT indices in patients with various forms of kyphotic spinal deformity (I – group of patients with Scheuermann–Mau disease; II – group of patients with a congenital anomaly of the spine with a kyphotic component)

спинального ССВП-пика (*N22*), величина которого также имела тенденцию к увеличению по сравнению с контролем.

Характеристика корреляционных взаимоотношений данных клинико-рентгенологического и нейрофизиологического исследований у пациентов с кифотической деформацией позвоночника. Для определения взаимосвязи клинико-рентгенологических и нейрофизиологических данных, характеризующих величину дуги кифотической деформации, изучали распределение значений параметров МО и ССВП, зарегистрированных в I группе ($n = 37$), в зависимости от величины угла кифотической деформации (II–IV степени).

Для количественной оценки корреляционной связи рассчитывали коэффициент Пирсона (*r*), с помощью которого определяли степень изменения величины временного показателя в соответствии с увеличением дуги кифоза у пациентов I группы (табл. 2).

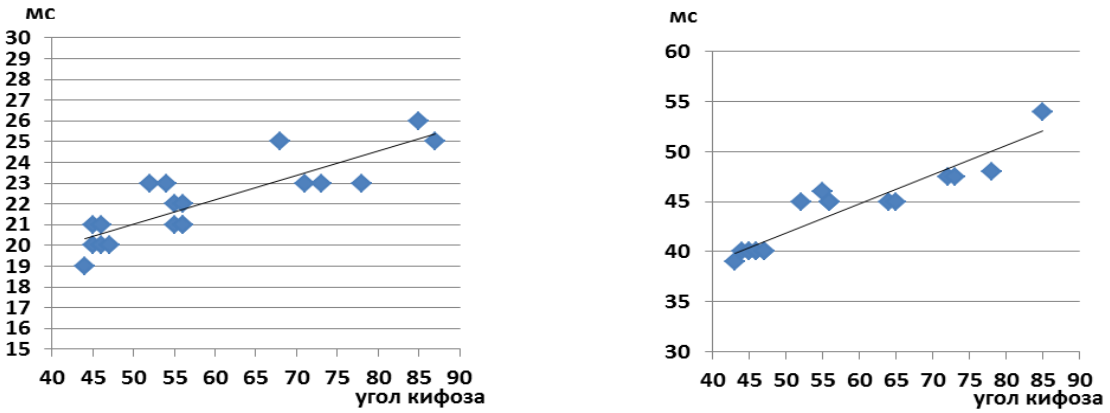
Распределение значений параметров МО и ССВП, зарегистрированных в I группе пациентов в зависимости от величины угла кифотической деформации (II–IV степени), представлено на схемах корреляционных решеток (рис. 2, 3). На рисунках видно, что степень концентрации значений нейрофизиологических показателей вблизи диагонали неодинакова при исследовании различных критериев. Наиболее близкое расположение вариант к диагонали, указывающее на наличие корреляции, отмечено для параметров МО (рис. 2) по сравнению с параметрами ССВП (рис. 3).

Т а б л и ц а 2. **Коэффициент корреляции в I группе пациентов**

T a b l e 2. **Correlation coefficient in group I**

Угол деформации (*x*), град.	Временной параметр (*y*), мс	*n*	*r*	*r* (критический)	Уровень значимости (*p*)
Латентное время моторного ответа при ТМС					
59,0	44,1	24	0,81	0,40	<0,01
Время центрального моторного проведения импульса					
59,0	21,5	24	0,69	0,40	<0,01
Латентное время соматосенсорного вызванного потенциала (*P38*)					
61,0	43,3	27	0,38	0,38	≤0,05
Время центрального афферентного проведения импульса (*CCT*)					
61,0	21,5	27	0,75	0,50	<0,01

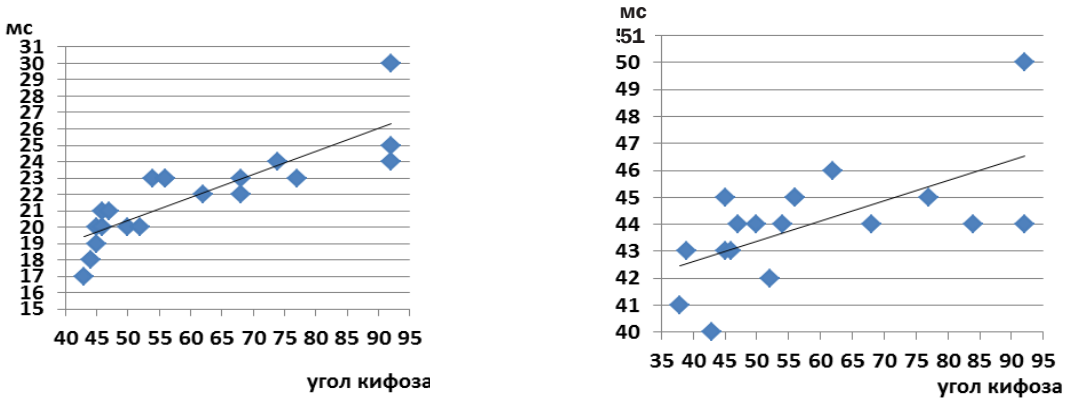
П р и м е ч а н и е: *r* – коэффициент корреляции; *x* – средняя величина дуги кифоза в анализируемой выборке I группы, град.; *y* – средняя величина временного показателя МО и ССВП.



a *b*

Рис. 2. Распределение значений вариант МО: *a* – время центрального моторного проведения импульса, мс; *b* – латентный период МО (мс) при ТМС

Fig. 2. Distribution of variant values of MEP: *a* – central motor conduction time, ms; *b* – latency period of MEP (ms) in TMS



a *b*

Рис. 3. Распределение значений вариант ССВП: *a* – *CCT*, мс; *b* – латентный период ССВП (*P38*), мс

Fig. 3. Distribution of variant values of SSEP: *a* – *CCT*, ms; *b* – latency period of SSEP (*P38*), ms

Из табл. 2 следует, что степень взаимосвязи в вариации двух переменных величин, определяемая коэффициентом корреляции в квадрате, т. е. r^2 [22, 23], была неодинаковой для различных критериев. При значениях $r = 0{,}81$, $r = 0{,}69$ и $r = 0{,}75$ вариации латентности МО, индексов ВЦМП

и *ССТ* коррелировали с увеличением угла кифотической деформации позвоночника в 66, 48 и 56 % случаев соответственно. Указанная степень связи изучаемых признаков оценивалась как тесная. При значении $r = 0{,}38$ связанность двух признаков наблюдалась только в 14 % случаев, что указывало на слабую корреляцию критерия латентности ССВП и угла кифоза.

Следует отметить, что корреляцию нарушений сенсомоторной функции с увеличением угла кифоза (одновременно по вентральным и дорзальным отделам СМ у одних и тех же пациентов) наблюдали у 27 человек. Случаи, когда корреляция изменений функции с увеличением угла кифоза определялась только по данным моторного или афферентного проводника, отмечали у 10 и 9 пациентов соответственно. Полученные данные являлись следствием преимущественной иритации (компрессии) вентральных или задних отделов СМ в условиях развития кифотической деформации, что позволяло детализировать особенности доминирующего поражения нервных структур в каждом конкретном случае.

Таким образом, тесная корреляция выраженности признаков сенсомоторной недостаточности СМ в зависимости от увеличения угла кифоза в I группе установлена по данным таких нейрофизиологических критериев, как латентное время МО, индексы ВЦМП и *ССТ*; слабая связь изменений в изучаемой выборке определялась по данным латентности ССВП (*P38*).

Во II группе пациентов, как указывалось выше, закономерность нарушений сенсомоторной функции системы восходящих и нисходящих трактов СМ также была статистически подтверждена (см. табл. 1). Однако результаты определения коэффициента Пирсона в этой группе не выявили тесной корреляции признаков нарушения функции от величины угла деформации на уровне кифотического компонента ВАРП. Предполагается, что причиной этого является многоуровневое поражение СМ при ВАРП, вследствие которого в основе патогенеза сенсомоторной недостаточности СМ ключевым фактором оказывается не только кифотическая деформация, но и комплекс патологических изменений на протяжении грудного и поясничного отделов позвоночника.

Заключение. Анализ данных клинико-рентгенологического наблюдения и нейрофизиологического обследования 64 пациентов с кифотической деформацией грудного и поясничного отделов позвоночника различной этиологии позволил получить объективную информацию о степени изменения проводниковой функции в системе нервных трактов СМ. При отсутствии неврологической симптоматики и данных МРТ о наличии очагового поражения нервных структур на вершине кифотической деформации именно нейрофизиологическое исследование выявило в двух клинических группах признаки функциональной недостаточности СМ.

Изменение функционального состояния СМ и спинномозговых корешков происходит в результате сагиттальной деформации и стеноза позвоночного канала на уровне дуги кифоза. В основе развития болевого синдрома и возможных неврологических осложнений лежат процессы поэтапной ирритации и компрессии нервных и сосудистых структур СМ вследствие стеноза и прогрессирующей деформации позвоночного канала. Представленный материал свидетельствует о необходимости полноценного предоперационного клинико-рентгенологического и нейрофизиологического обследования пациентов с кифотической деформацией позвоночника с целью уточнения состояния содержимого позвоночного канала в предоперационном периоде.

Детальный анализ распределения средних значений МО и ССВП свидетельствовал о высокой информативности таких критериев, как латентность вызванных ответов, индексы ВЦМП и *ССТ*, в оценке нарушений сенсомоторной функции СМ. Анализ коррелятивных взаимоотношений клинико-рентгенологических и нейрофизиологических данных у пациентов с болезнью Шейермана показал тесную взаимосвязь между увеличением угла кифотической деформации и нарушением нейрофизиологических параметров. Установленные нейрофизиологические критерии функционального изменения афферентных и моторных трактов позволили дать количественную оценку нарушениям функций СМ у пациентов с грудным и грудопоясничным кифозом II–IV степени.

Полученные результаты дифференцированной оценки степени и характера нарушений функций СМ у пациентов с кифотической деформацией позвоночника являлись объективным аргументом при разработке показаний к проведению консервативного и/или хирургического лечения.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список использованных источников

1. Оперативное лечение тяжелых протяженных кифотических деформаций грудного и поясничного отделов позвоночника / С. Т. Ветрилэ [и др.] // Хирургия позвоночника. – 2009. – № 3. – С. 20–29.

2. Михайловский, М. В. Неврологическая симптоматика при болезни Шейермана: обзор редких клинических наблюдений / М. В. Михайловский, А. А. Альшевская, В. В. Ступак // Хирургия позвоночника. – 2021. – Т. 18, № 2. – С. 6–19.

3. Thoracic cord compression caused by disk herniation in Scheuermann's disease: a case report and review of the literature / G. A. Kapetanos [et al.] // Eur. Spine. J. – 2006. – Vol. 15, suppl. 5. – P. 553–558. https://doi.org/10.1007/s00586-005-0053-0

4. Меллер, Т. Б. Норма при КТ- и МРТ-исследованиях / Т. Б. Меллер, Э. Райф. – 2-е изд. – М. : МЕДпресс-информ, 2013. – 255 с.

5. Челпаченко, О. Б. Определение показаний к декомпрессии позвоночного канала у пациентов с кифотическими деформациями грудного и поясничного отделов позвоночника / О. Б. Челпаченко, К. В. Жердев, А. А. Овечкина // Педиатр. фармакология. – 2014. – Т. 11, № 4. – С. 75–80.

6. Мультимодальные вызванные потенциалы и транскраниальная магнитная стимуляция в диагностике энцефалита, диссеминированного энцефаломиелита и рассеянного склероза у детей / Е. Ю. Скрипченко [и др.] // Рус. журн. детск. неврол. – 2018. – Т. 13, № 1. – С. 20–33.

7. Магнитно-резонансная томография как инструмент дифференциальной диагностики при поражении ствола головного мозга у детей / Н. В. Марченко [и др.] // Клин. практика. – 2020. – Т. 11, № 1. – С. 81–91.

8. Quantitative assessment of myelopathy patients using motor evoked potentials produced by transcranial magnetic stimulation / T. Nakamae [et al.] // Eur. Spine J. – 2010. – Vol. 19, N 5. – P. 685–690. https://doi.org/10.1007/s00586-009-1246-8

9. Команцев, В. Н. Возможности нейрофизиологических методов в оценке локализации поражения нервной системы при нейроинфекциях у детей / В. Н. Команцев, Н. В. Скрипченко, М. В. Савина // Журн. инфектологии. – 2010. – Т. 2, № 2. – С. 40–44.

10. Клинико-электронейрофизиологическая оценка эффективности применения мексидола в лечении тревожных расстройств у больных рассеянным склерозом и хронической ишемией головного мозга / Ф. А. Хабиров [и др.] // Бюл. эксперим. биологии и медицины. – 2012. − № S1. – С. 6–9.

11. Захаров, А. В. Мультимодальные вызванные потенциалы при клинически изолированном синдроме / А. В. Захаров, И. Е. Повереннова, Е. В. Хивинцева // Практ. медицина. – 2018. − № 10. – С. 102–106.

12. Адамбаев, З. И. Прогностическая значимость показателей электронейромиографии и вызванных потенциалов при стенозе позвоночного канала / З. И. Адамбаев // Мед. новости. – 2019. − № 6. – С. 69–71.

13. Использование нейрофизиологических методов в диагностике и лечении полисегментарного стеноза шейного отдела позвоночного канала / И. А. Ильясевич [и др.] // Мед. новости. – 2020. – № 9. − С. 61–63.

14. Сошникова, Е. В. Нейрофизиологическая оценка функции нервных трактов спинного и головного мозга у пациентов со сколиозом IV степени тяжести / Е. В. Сошникова // Рос. нейрохирург. журн. им. проф. А. Л. Поленова. – 2018. – Т. 10, спец. вып. – С. 232–233.

15. Dvorak, J. Cervical myelopathy: clinical and neurophysiological evaluation / J. Dvorak, M. Sutter, J. Herdmann // Eur. Spine J. – 2003. – Vol. 12, suppl. 2. – P. S181–S187. https://doi.org/10.1007/s00586-003-0631-y

16. Гнездицкий, В. В. Вызванные потенциалы мозга в клинической практике / В. В. Гнездицкий. – М. : МЕДпресс-информ, 2003. – 264 с.

17. Никитин, С. С. Магнитная стимуляция в диагностике и лечении болезней нервной системы / С. С. Никитин, А. Л. Куренков. – М. : Сашко, 2003. – 374 с.

18. Role of motor evoked potentials in diagnosis of cauda equine and lumbosacral cord lesions / V. Di Lazzaro [et al.] // Neurology. – 2004. – Vol. 63, N 12. – P. 2266–2271. https://doi.org/10.1212/01.wnl.0000147296.97980.ca

19. Chang, C. W. Measurement of motor conduction in the thoracolumbar cord / C. W. Chang, S. M. Lin // Spine. – 1996. – Vol. 21, N 4. – P. 485–491. https://doi.org/10.1097/00007632-199602150-00014

20. Chan, Y. C. The use of transcranial magnetic stimulation in the clinical evaluation of suspected myelopathy / Y. C. Chan, K. R. Mills // J. Clin. Neurosci. – 2005. – Vol. 12, N 8. – P. 878–881. https://doi.org/10.1016/j.jocn.2005.01.007

21. Ремнев, А. Г. Функциональное состояние проводящих путей спинного мозга при болезни Шейермана / А. Г. Ремнев, А. А. Олейников // Рос. нейрохирург. журн. им. проф. А. Л. Поленова. – 2022. – Т. 14, спец. вып. – С. 82.

22. Рокицкий, П. А. Биологическая статистика / П. А. Рокицкий. – 3-е изд., испр. – Минск : Вышэйш. шк., 1973. – 319 с.

23. Гланц, С. Медико-биологическая статистика / С. Гланц. – М. : Практика, 1999. – 459 с.

References

1. Vetrile S. T., Kuleshov A. A., Vetrile M. S., Chelpachenko O. B. The surgical treatment of severe extended kyphotic deformities of the thoracic and lumbar spine. *Khirurgiya pozvonochnika* [Spine surgery], 2009, no. 3, pp. 20–29 (in Russian).

2. Mikhailovskii M. V., Al'shevskaya A. A., Stupak V. V. The neurological symptoms in Scheuermann's disease: a review of rare clinical observations. *Khirurgiya pozvonochnika* [Spine surgery], 2021, vol. 18, no. 2, pp. 6–19 (in Russian).

3. Kapetanos G. A., Hantzidis P. T., Anagnostidis K. S., Kirkos J. M. Thoracic cord compression caused by disk herniation in Scheuermann's disease: a case report and review of the literature. *European Spine Journal*, 2006, vol. 15, suppl. 5, pp. 553–558. https://doi.org/10.1007/s00586-005-0053-0

4. Torsten B., Reif E. *Normal findings in CT and MRI*. Stuttgart, Thieme, 2000. 250 p.

5. Chelpachenko O. B., Zherdev K. V., Ovechkina A. A. Identification of indications to vertebral canal decompression in patients with kyphotic deformities of thoracic and lumbar spine. *Pediatricheskaya farmakologiya* [Pediatric pharmacology], 2014, vol. 11, no. 4, pp. 75–80 (in Russian).

6. Skripchenko E. Yu., Klimkin A. V., Voitenkov V. B., Skripchenko N. V., Surovtseva A. V. Multimodal evoked potentials and transcranial magnetic stimulation in diagnosis of children with encephalitis, acute disseminated encephalomyelitis

and multiple sclerosis. *Russkii zhurnal detskoi nevrologii* [Russian journal of child neurology], 2018, vol. 13, no. 1, pp. 20–33 (in Russian).

7. Marchenko N. V., Voitenkov V. B., Skripchenko N. V., Bedova M. A., Kurzantseva O. O. Magnetic resonance imaging as a tool of differential diagnostic in the brainstem damage in children. *Klinicheskaya praktika* [Clinical practice], 2020, vol. 11, no. 1, pp. 81–91 (in Russian).

8. Nakamae T., Tanaka N., Nakanishi K., Fujimoto Y., Kamei N., Yamamoto R., Izumi B., Fujioka Y., Ohta R., Ochi M. Quantitative assessment of myelopathy patients using motor evoked potentials produced by transcranial magnetic stimulation. *European Spine Journal*, 2010, vol. 19, no. 5, pp. 685–690. https://doi.org/10.1007/s00586-009-1246-8

9. Komantsev V. N., Skripchenko N. V., Savina M. V. The resources of neurophysiological methods for diagnostic localization of nervous system lesion in children's neuroinfection. *Zhurnal infektologii* [Journal of infectology], 2010, vol. 2, no. 2, pp. 40–44 (in Russian).

10. Khabirov F. A., Khaibullin T. I., Babicheva N. N., Aver'yanova L. A., Granatov E. V. Clinical and electroneurophysiological evaluation of the efficacy of mexidol in the treatment of anxiety disorders in patients with multiple sclerosis and chronic cerebral ischemia. *Byulleten' eksperimental'noi biologii i meditsiny* [Bulletin of experimental biology and medicine], 2012, no. S1, pp. 6–9 (in Russian).

11. Zakharov A. V., Poverennova I. E., Khivintseva E. V. Multimodal evoked potentials in clinically isolated syndrome. *Prakticheskaya meditsina* [Practical medicine], 2018, no. 10, pp. 102–106 (in Russian).

12. Adambaev Z. I. The prognostic significance of electroneuromyography parameters and evoked potentials in spinal canal stenosis. *Meditsinskie novosti* [Medical news], 2019, no. 6, pp. 69–71 (in Russian).

13. Il'yasevich I. A., Khomushko I. S., Soshnikova E. V., Mazurenko A. N., Zarovskaya A. V. The use of neurophysiological methods in the diagnosis and treatment of polysegmental stenosis of the cervical spinal canal. *Meditsinskie novosti* [Medical news], 2020, no. 9, pp. 61–63 (in Russian).

14. Soshnikova E. V. The neurophysiological assessment of the function of the nerve tracts of the spinal cord and brain in patients with grade IV scoliosis. *Rossiiskii neirokhirurgicheskii zhurnal imeni professora A. L. Polenova* [Russian Neurosurgical Journal named after Professor A. L. Polenov], 2018, vol. 10, special issue, pp. 232–233 (in Russian).

15. Dvorak J. M., Sutter J., Herdmann J. Cervical myelopathy: clinical and neurophysiological evaluation. *European Spine Journal*, 2003, vol. 12, suppl. 2, pp. S181–S187. https://doi.org/10.1007/s00586-003-0631-y

16. Gnezditskii V. V. *Evoked brain potentials in clinical practice*. Moscow, MEDpress-inform Publ., 2003. 264 p. (in Russian).

17. Nikitin S. S., Kurenkov A. L. *Magnetic stimulation in the diagnosis and treatment of diseases of the nervous system*. Moscow, Sashko Publ., 2003. 374 p. (in Russian).

18. Di Lazzaro V., Pilato F., Oliviero A., Saturno E., Dileone M., Tonali P. F. Role of motor evoked potentials in diagnosis of cauda equine and lumbosacral cord lesions. *Neurology*, 2004, vol. 63, no. 12, pp. 2266–2271. https://doi.org/10.1212/01.wnl.0000147296.97980.ca

19. Chang C. W., Lin S. M. Measurement of motor conduction in the thoracolumbar cord. *Spine*, 1996, vol. 21, no. 4, pp. 485–491. https://doi.org/10.1097/00007632-199602150-00014

20. Chan Y. C., Mills K. R. The use of transcranial magnetic stimulation in the clinical evaluation of suspected myelopathy. *Journal of Clinical Neuroscience*, 2005, vol. 12, no. 8, pp. 878–881. https://doi.org/10.1016/j.jocn.2005.01.007

21. Remnev A. G., Oleinikov A. A. The functional state of the conducting pathways of the spinal cord in Scheuermann's disease. *Rossiiskii neirokhirurgicheskii zhurnal imeni professora A. L. Polenova* [Russian Neurosurgical Journal named after Professor A. L. Polenov], 2022, vol. 14, special issue, p. 82 (in Russian).

22. Rokitskii P. A. *Biological statistics*. Minsk, Vysheishaya shkola Publ., 1973. 319 p. (in Russian).

23. Glantz S. A. *Primer of biostatistics*. *4th ed.* New York, McGraw-Hill, Health Professions Division, 1997. 473 p.

Информация об авторах

Ильясевич Инесса Александровна – д-р биол. наук, доцент, заведующий лабораторией. Республиканский научно-практический центр травматологии и ортопедии (ул. Кижеватова, 60/4, 220024, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: inessa.ilyasevich@mail.ru

Сошникова Елена Валерьевна – канд. биол. наук, вед. науч. сотрудник. Республиканский научно-практический центр травматологии и ортопедии (ул. Кижеватова, 60/4, 220024, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: elena-soshnikova@mail.ru

Тесаков Дмитрий Кимович – канд. мед. наук, вед. науч. сотрудник. Республиканский научно-практический центр травматологии и ортопедии (ул. Кижеватова, 60/4, 220024, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: dk-tesakov@yandex.ru

Кульчицкий Владимир Адамович – академик, д-р мед. наук, профессор, руководитель Центра мозга Института физиологии НАН Беларуси (ул. Академическая, 28, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: vladi@fizio.bas-net.by

Хомушко Ирина Сергеевна – ст. науч. сотрудник. Республиканский научно-практический центр травматологии и ортопедии (ул. Кижеватова, 60/4, 220024, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: I.Khomushka@gmail.com

Information about the authors

Inessa A. Ilyasevich – D. Sc. (Biol.), Assistant Professor, Head of the Laboratory. Republican Scientific and Practical Center of Traumatology and Orthopedics (60/4, Kizhevatov Str., 220024, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: inessa.ilyasevich@mail.ru

Elena V. Soshnikova – D. Sc. (Biol.), Leading Researcher. Republican Scientific and Practical Center of Traumatology and Orthopedics (60/4, Kizhevatov Str., 220024, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: elena-soshnikova@mail.ru

Dmitriy K. Tesakov – D. Sc. (Med.), Leading Researcher. Republican Scientific and Practical Center of Traumatology and Orthopedics (60/4, Kizhevatov Str., 220024, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: dk-tesakov@yandex.ru

Vladimir A. Kulchitsky − Academician, D. Sc. (Med.), Professor, Head of the Brain Centre, Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Belarus (28, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: vladi@fizio.bas-net.by

Irina S. Khomushka − Senior Researcher. Republican Scientific and Practical Center of Traumatology and Orthopedics (60/4, Kizhevatov Str., 220024, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: I.Khomushka@gmail.com

ISSN 1814-6023 (Print)
ISSN 2524-2350 (Online)
УДК 616-001.4-002-036.12-076.5-091.8-08
https://doi.org/10.29235/1814-6023-2023-20-4-326-339

Поступила в редакцию 29.07.2022
Received 29.07.2022

Ю. И. Ярец[1], И. А. Славников[2]

[1]Республиканский научно-практический центр радиационной медицины и экологии человека, Гомель, Республика Беларусь
[2]Гомельский государственный медицинский университет, Гомель, Республика Беларусь

ОБОСНОВАНИЕ ТАКТИКИ ЛЕЧЕНИЯ ХРОНИЧЕСКИХ РАН НА РАЗЛИЧНЫХ СТАДИЯХ ИНФЕКЦИОННОГО ПРОЦЕССА НА ОСНОВАНИИ АНАЛИЗА РЕЗУЛЬТАТОВ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИХ И КЛИНИКО-МОРФОЛОГИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ

Аннотация. Для лечения хронических ран (ХР) требуется комплексный подход с использованием клинической оценки, микробиологических и гистологических методов исследования, что позволит избежать осложнений после хирургического вмешательства.

Цель работы – оценить возможность использования микробиологических и клинико-морфологических параметров, характеризующих состояние ХР, для обоснования выбора тактики предоперационной подготовки к аутодермопластике (АДП).

Проанализированы морфологические и микробиологические показатели ХР (n = 229) на различных стадиях инфекционного процесса. Для подготовки ХР к АДП использовались следующие методы лечения: перевязки, вакуум-терапия (ВТ), механический дебридмент (МД), ультразвуковой дебридмент (УЗД).

Критериями, определяющими возможность ведения ХР «под повязкой» в сочетании с МД, являются: отсутствие признаков воспаления и нормальное состояние грануляций, отрицательный результат микробиологического посева, гистологический результат Si 1/Si 2 и Sp 1/Sp 2. Для выполненных патологически измененными грануляциями ХР, колонизированных потенциальными патогенами и имеющих критерии Sp 3, Si 2/Si 3, показано использование двух процедур УЗД (1-я – в сочетании с МД, 2-я – перед АДП), между которым применяется ВТ. Имеющие признаки Sp 3 в сочетании с Si 1 или Si 2 критически колонизированные раны, из которых выделяются микроорганизмы в количестве $\leq 10^5$ КОЕ/мл, характеризующиеся персистентными свойствами, являются показанием к ВТ, которая выполняется между двумя процедурами УЗД. Клинические признаки инфекции, наличие в ране крупнозернистых грануляций, морфологические признаки Si 3/Si 2 и Sp 1/Sp 2 являются показаниями к использованию двух процедур УЗД в сочетании с системной антибактериальной терапией на основании результатов посева.

Микробиологические и морфологические параметры объективно характеризуют состояние ХР на различных стадиях инфекционного процесса (колонизация, критическая колонизация, инфекция) и рекомендуются в качестве критериев выбора тактики предоперационной подготовки к АДП.

Ключевые слова: хроническая рана, инфекционный процесс, микробиологический посев, интерпретация результатов, патогенный потенциал, морфологическое исследование, дебридмент раны, вакуум-терапия, аутодермопластика

Для цитирования: Ярец, Ю. И. Обоснование тактики лечения хронических ран на различных стадиях инфекционного процесса на основании анализа результатов микробиологических и клинико-морфологических параметров / Ю. И. Ярец, И. А. Славников // Вес. Нац. акад. навук Беларусі. Сер. мед. навук. – 2023. – Т. 20, № 4. – С. 326–339. https://doi.org/10.29235/1814-6023-2023-20-4-326-339

Yuliya I. Yarets[1], Ilya A. Slavnikov[2]

[1]Republican Research Center for Radiation Medicine and Human Ecology, Gomel, Republic of Belarus
[2]Gomel State Medical University, Gomel, Republic of Belarus

SUBSTANTIATION OF TACTICS OF CHRONIC WOUND BED PREPARATION AT VARIOUS STAGES OF THE INFECTIOUS PROCESS ON THE BASIS OF THE ANALYSIS OF THE RESULTS OF MICROBIOLOGICAL, CLINICAL AND MORPHOLOGICAL PARAMETERS

Abstract. The chronic wounds (CW) bed preparation requires an integrated approach using wound assessment, microbiological and histological analysis, which will avoid skin graft failure.

The aim was to evaluate the possibility of using microbiological and morphological parameters of CW assessment to substantiate the choice of tactics of wound bed preparation to skin grafting (SG).

Morphological and microbiological indicators of CW (n = 229) at various stages of the infectious process were analyzed. To prepare CW to SG, the following treatment methods were used: dressings, vacuum therapy (VT), mechanical debridement (MD), and ultrasound debridement (UD).

The criteria that determine the possibility of CW preparation “under a bandage” in combination with MD are: the absence of inflammation signs and the normal state of granulations (red-pink color, firm and moist), a negative result of wound

© Ярец Ю. И., Славников И. А., 2023

swabs, the histological result of Si 1/Si 2 and Sp 1/Sp 2. For CW performed with pathologically altered granulations colonized by potential pathogens and having Sp 3, Si 2/Si 3 criteria, the use of 2 UD procedures is indicated (1st in combination with MD, 2nd before SG), between which VT is applied. Critically colonized wounds showing the signs of Sp 3 in combination with Si 1 or Si 2, from which microorganisms are isolated in an amount of $\leq 10^5$ CFU/ml and are characterized by persistent properties, are an indication for VT, which is performed between two UD procedures. Clinical infection signs, the presence of bright red friable and bulge granulations in the wound, morphological signs of Si 3/Si 2 and Sp 1/Sp 2 are indications for the use of 2 UD procedures in combination with systemic antibiotic therapy based on wound swab culture results.

Microbiological and morphological parameters characterize the CW state at various stages of the infectious process (colonization, critical colonization, infection) and are recommended as criteria for choosing tactics for wound bed preparation to SG.

Keywords: chronic wound, infectious process, wound swab culture, interpretation of results, pathogenic potential, morphological study, wound debridement, vacuum therapy, skin grafting

For citation: Yarets Yu. I., Slavnikov I. A. Substantiation of tactics of chronic wound bed preparation at various stages of the infectious process on the basis of the analysis of the results of microbiological, clinical and morphological parameters. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya medytsynskikh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2023, vol. 20, no. 4, pp. 326–339 (in Russian). https://doi.org/10.29235/1814-6023-2023-20-4-326-339

Введение. Значительной проблемой в хирургии дефектов покровных тканей тела является кожная пластика у пациентов с хроническими ранами (ХР) ввиду значительного количества неудовлетворительных исходов операции. Для исключения осложнений после аутодермопластики (АДП) у данной группы пациентов требуется оценка многих критериев стагнирующей раны. В отечественной хирургической практике нередкими являются случаи, когда лечащий врач ограничивается лишь получением анамнестических сведений о ХР, что позволяет лишь установить причину возникновения дефекта кожи [1].

В настоящее время многие известные хирургические школы используют единую международную систему клинической оценки ХР, представленную в акрониме «TIME»: T (Tissue) – наличие нежизнеспособных тканей; I (Infection, inflammation) – характер воспалительных изменений, связанных с наличием микроорганизмов; M (Moisture imbalance) – верификация уровня влажности и характеристик экссудата; E (Epithelial edge advancement) – состояние края раны и окружающих тканей, выявление полостей деструкции и краевой эпителизации. Указанная система предполагает не только оценку указанных выше критериев локального статуса ХР, но и таргетное лечебное воздействие на те параметры раны, которые являются патологическими: выполнение дебридмента, подавление инфекции, контроль уровня влажности, стимуляция эпителизации [2].

Однако даже при использовании данного акронима возможно получение неудовлетворительного результата кожной пластики. Причиной этого в первую очередь является то, что ХР одинаковой давности и аналогичного генеза, а значит, имеющие сопоставимые локальные критерии, могут иметь разный микробиологический статус (контаминация, колонизация, критическая колонизация и глубокая раневая инфекция), требующий использования различных методов дебридмента (механического, физического), а также системной антибактериальной терапии. Второй причиной осложнений после АДП является отсутствие оценки морфологического статуса ХР, а именно уровней воспаления и пролиферации. Адекватный анализ морфологических критериев позволит выявить состояния, при которых невозможно обеспечить нормальную трофическую функцию раневого ложа для трансплантированного кожного лоскута и применить методы лечения, позволяющие нивелировать нарушения пролиферации.

Цель исследования – оценить возможность использования микробиологических и клинико-морфологических параметров, характеризующих состояние хронических ран, для обоснования выбора тактики предоперационной подготовки к аутодермопластике.

Материалы и методы исследования. Объектами исследования являлись микробиологические и клинико-морфологические параметры ХР пациентов (срок давности ран более 3 недель, $n = 229$) на различных стадиях инфекционного процесса (колонизация, критическая колонизация, инфекция). Пациенты поступали в ожоговое отделение ГУЗ «Гомельская городская клиническая больница № 1» для оказания специализированной медицинской помощи в период с 2012 по 2020 г. Дефекты покровных тканей тела были представлены посттравматическими (вследствие механических травм, термических ожогов), постнекротическими (после гнойно-воспалительных заболеваний кожи и подлежащих тканей) ранами; трофическими (на культях нижних конечностей

после длительного ношения протеза), нейротрофическими (вследствие механической травмы периферических нервов) язвами; пролежнями III стадии (вследствие длительного сдавления тканей).

Для оценки клинического состояния раны использовали международные рекомендации [2–5]. При наличии признаков воспаления на основании критериев NERDS&STONEES устанавливали состояния критической колонизации (n = 59; 25,8 %) и инфекции (n = 29; 12,7 %) [3]. Для подтверждения инфекционной этиологии воспалительного статуса всем пациентам выполняли микробиологическое исследование раневого отделяемого согласно разработанным нами рекомендациям [6]. Раны, не имеющие клинических признаков воспаления (n = 141), разделяли на две категории: ХР, из которых не высевались микроорганизмы (n = 34; 14,8 %), и ХР, колонизированные микроорганизмами (n = 107; 46,7 %). При условии соблюдения требований преаналитического этапа после посева учитывали все микроорганизмы, выделенные на плотных питательных средах, а также из среды обогащения. Отрицательным результатом посева (в бланке ответа указывалось, что «роста микрофлоры не получено») считали отсутствие выделения микроорганизмов после их культивирования. Количество полученных изолятов представляли в виде $\leq 10^5$ КОЕ/мл и $>10^5$ КОЕ/мл. Микроорганизмы, выделенные из среды обогащения, обозначали как «качественное определение». В протокол микробиологического исследования включали тесты, характеризующие патогенный потенциал изолятов. Свойства оценивали у изолятов, имеющих широкое клиническое значение и представляющих первоочередной интерес для микробиологического мониторинга в стационаре: *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, среди энтеробактерий – *Proteus mirabilis* [7]. У фенотипических маркеров с помощью стандартных методов анализировали способность к секреции защитных протеаз, определяющих персистентные свойства бактерий (антикомплементарную, антилизоцимную, антиинтерфероновую активность – АКА, АЛА, АИА), а также протеазную и адгезивную активность (АА). Способность бактерий формировать биопленку определяли спектрофотометрическим методом. Для окраски основного вещества (ОВ) биопленки использовали краситель Конго красный, для окраски биомассы (БМ) – генцианвиолет. Результат выражали в единицах оптической плотности [8]. Методом ПЦР у изолятов детектировали гены, регулирующие вирулентность, образование биопленки, коммуникацию в рамках системы quorum sensing (QS). Чувствительность изолятов к антибактериальным средствам (АБС) оценивали согласно действующим рекомендациям [9, 10].

В ХР регистрировали морфологические признаки воспаления и нарушений пролиферации на основании результатов гистологического исследования биоптатов грануляционной ткани, которое выполняли однократно (на момент поступления пациентов). Результаты анализа морфологических критериев представляли в виде Si 0, Si 1, Si 2, Si 3 (обозначающих отсутствие, низкую, умеренную, высокую степени активности воспаления) и Sp 0, Sp 1, Sp 2, Sp 3 (обозначающих отсутствие, минимальные, умеренные, выраженные нарушения пролиферации) [11].

Всем пациентам выполняли комплекс лечебных мероприятий подготовки основания раны, направленных на перевод хронической раны в острую и достижения ее готовности к пластическому закрытию путем АДП. Стандартный метод подготовки раны, применяемый в практике гнойной хирургии, включал ежедневные перевязки с мазью на водорастворимой основе. В связи с риском возникновения системной инфекции при наличии стойкой гипертермии пациентам, имеющим клинические признаки инфекции раны по STONEES (n = 29), в схему предоперационного лечения включали антибиотики, исходя из результатов микробиологического посева раневого отделяемого. В предоперационном периоде во время перевязок проводился хирургический туалет ран стерильными марлевыми шариками, смоченными в 4%-ном растворе борной кислоты. МД раны подразумевал иссечение некротического струпа, верхнего слоя патологически измененных грануляций. Подготовка раны с использованием аппаратных методов включала УЗД с применением одной (непосредственно перед АДП) или двух процедур. При выполнении двух сеансов УЗД первую процедуру сочетали с МД и выполняли на 3-и (2-е, 5-е) сутки (95 % ДИ: 2,92–3,57) после поступления в стационар, а вторую проводили через 5–10 сут, непосредственно перед АДП. Для выполнения УЗД использовали диссектор Sonoca-185 (25 кГц) (Söring, Германия). В качестве звукопроводящей среды применяли стерильный изотонический раствор натрия хлорида. Между процедурами УЗД подготовку раны осуществляли с помощью стандартного «повязочного» метода. Кроме того, применяли комбинированный метод аппаратного лечения – между двумя этапами УЗД для подготовки раны использовали ВТ. Для создания

отрицательного давления 0,075–0,1 кПа (80–120 мм рт. ст.) в области раны применяли аспиратор «В 40 А» (НПО «Висма–Планар», Республика Беларусь). Смену покрытий и обработку емкостей аппарата производили через день, подготовку раны – до ее полного очищения и формирования нормальной грануляционной ткани. АДП включала в себя закрытие всей площади раневого дефекта расщепленным кожным лоскутом толщиной 0,2–0,4 мм. Полное восстановление трофики трансплантата и его приживление происходило на 7–10-е сутки. В случаях осложненного послеоперационного периода возникал лизис лоскута. Повторную АДП выполняли после адекватной подготовки раны.

При статистическом описании результатов встречаемость микробиологических и морфологических признаков выражали в относительных единицах (%). Частотный анализ в таблицах сопряженности проводили с использованием критерия χ^2 Пирсона. Для слабонасыщенных таблиц (имелись ячейки со значениями ≤5) значимость оценивали с помощью рандомизированной процедуры Монте-Карло.

Результаты и их обсуждение. Всего из колонизированных ХР (n = 107), не имеющих клинических признаков воспаления, было выделено 154 культуры микроорганизмов. *S. aureus* составляли 33,8 % (n = 52) (монокультуры – 33; в ассоциациях – 19), выделялись в различном количестве (>10^5 КОЕ/мл – 40,3 %, n = 21; ≤10^5 КОЕ/мл – 32,7 %, n = 17; качественно – 27,0 %, n = 14). *E. faecalis* обнаруживались в 21,4 % (n = 33) случаев (>10^5 КОЕ/мл – 18,2 %, n = 6; ≤10^5 КОЕ/мл – 18,2 %, n = 6; качественно – 63,6 %, n = 21), чаще в составе ассоциаций (n = 26), реже в монокультурах (n = 7). Другими представителями грамположительной (Грам(+)) микробиоты были коагулазонегативные стафилококки (coagulase-negative staphylococci – CoNS) – 14,3 % (n = 22), представленные *Staphylococcus haemolyticus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus hominis.* Выделялся широкий спектр грамотрицательных (Грам(–)) бактерий (16,2 %, n = 25), включающих энтеробактерии *P. mirabilis*, *Escherichia coli*, *Enterobacter cloacae*, *Enterobacter agglomerans*, *Citrobacter freundii*, *Klebsiella planticola*, *Klebsiella oxytoca*, *Klebsiella pneumoniae* и неферментирующие бактерии (НФБ) (8,5 %, n = 13) – *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas putida*, *Pseudomonas fluorescens*, *Acinetobacter iwoffii*, *Acinetobacter baumannii*, *P. aeruginosa* (n = 6, монокультуры), *A. baumannii* (n = 1, в ассоциации), *K. pneumoniae* (n = 1, в ассоциации), *P. mirabilis* (n = 5, монокультуры и ассоциации) обнаруживались только при качественном определении. Минимальной была частота встречаемости группы *Streptococcus viridans* (3,2 %, n = 5) и *Candida albicans* или *non-albicans* (2,6 %, n = 4).

Из критически колонизированных ХР (три и более клинических признака по NERDS) (n = 59) было выделено 110 изолятов микроорганизмов в виде монокультур (37,3 %, n = 22), двух- или трехкомпонентных ассоциаций (62,7 %, n = 37). Монокультуры были представлены *S. aureus* (n = 11), *P. aeruginosa* (n = 7), *K. pneumoniae* (n = 2), *A. baumannii* (n = 2). Ассоциации были образованы Грам(+) (*S. aureus*, CoNS, *E. faecalis*) и Грам(–) бактериями, видовой спектр которых был не таким широким, как в колонизированных ранах. Так, НФБ были представлены только *P. aeruginosa* и *A. baumannii*, а энтеробактерии – *P. mirabilis* и *E. cloacae*. Видовой состав микроорганизмов (57 изолятов), выделенных из инфицированных ХР (n = 29) (три и более клинических признака по STONEES), существенно не отличался от такового в критически колонизированных ХР и также был представлен монокультурами (35,5 %, n = 10) и ассоциациями (65,5 %, n = 19).

Наиболее часто из инфицированных ран бактерии выделялись в количестве >10^5 КОЕ/мл – 75,4 % (43 изолята): *P. aeruginosa* – 7, *P. mirabilis* – 8, *A. baumannii* – 11, *S. aureus* – 11, *E. faecalis* – 6. Частота обнаружения изолятов в количестве ≤10^5 КОЕ/мл или при качественном определении была одинаковой и составляла по 12,3 % (по 7 изолятов). В отличие от инфицированных ХР, общая частота обнаружения изолятов в количестве >10^5 КОЕ/мл в критически колонизированных ХР была ниже – 55,5 % (n = 61): *P. mirabilis* –10, *P. aeruginosa* – 15, *E. faecalis* – 8, *S. aureus* – 22, *K. pneumoniae* – 1, *A. baumannii* – 5. В титре ≤10^5 КОЕ/мл или качественным способом бактерии обнаруживались в 18,2 % (n = 20) и 26,3 % (n = 29) случаев. По количественным характеристикам микробиота ХР, имеющих клинические признаки воспаления, значимо отличалась от таковой в колонизированных ХР (>10^5 КОЕ/мл: 32,5 %, n = 50; ≤10^5 КОЕ/мл: 19,5 %, n = 30; качественное определение – 48,0 %, n = 74), χ^2 = 34,07; p < 0,001.

Установлены различия в микробиологических характеристиках бактерий в зависимости от клинических категорий ХР – колонизированные, критически колонизированные, инфициро-

ванные раны. *S. aureus*, выделенные из колонизированных ХР, проявляли персистентные свойства. Это выражалось в умеренной и выраженной способности формировать ОВ биопленки, а также в активной секреции защитных протеаз (АКА, АЛА, АИА). Колонизационный потенциал *S. aureus* характеризовался высокой АА в сочетании с накоплением БМ биопленки. У некоторых изолятов *S. aureus* (23,1 %, $n = 12$) из колонизированных ХР не обнаруживались гены *ica* оперона (*icaAD*– и *icaBC*–), который контролирует синтез межклеточного полисахаридного адгезина – одного из факторов вирулентности [12]. У *S. aureus*, выделенных из критически колонизированных и инфицированных ХР, персистентные свойства проявлялись в меньшей степени. Следует отметить, что изоляты *S. aureus* в ряде случаев имели нарушенные идентификационные свойства в виде отсутствия 1–2 признаков, например лецитовителлазной, гемолитической активности на плотных питательных средах (кровяной агар, желточно-солевой агар с добавлением маннита). В 18,8–29,6 % случаев *S. aureus* проявляли фибринолитическую активность (табл. 1).

Изоляты *E. faecalis*, выделенные из колонизированных ХР, в 100 % случаев ($n = 33$) характеризовались умеренной и выраженной способностью формировать ОВ биопленки, тогда как у *E. faecalis*, выделенных из критически колонизированных и инфицированных ХР, это свойство проявлялось в 33,3 % ($n = 4$) и 18,2 % ($n = 2$) случаев ($\chi^2 = 42{,}72$; $p < 0{,}001$). Известно, что *E. faecalis*, как представители нормальной микробиоты кишечника, являются слабопатогенными бактериями. В связи с этим секреция протеаз (АКА, АИА, АЛА), а также АА, в наибольшей степени выраженная у *E. faecalis*, выделенных из ХР с клиническими признаками воспаления (табл. 1), может рассматриваться как реализация патогенного потенциала *E. faecalis.* Наиболее постоянными генетическими детерминантами вирулентности у *E. faecalis* были *gelE* (синтез желатиназы), *fsrABC* (регуляторная система синтеза желатиназы), *ebpABC* (регуляторная система синтеза адгезинов), *bop* (синтез поверхностных белков биопленки), *pil* (образование пилей), которые обнаруживались у 100 % изолятов. Остальные гены – *asa1* (синтез адгезина), *agg* (образование агрегационной субстанции), *esp* (секреция белков биопленки) и *ace* (образование адгезина, обеспечивающего прикрепление к коллагену) – реже детектировались у *E. faecalis* из колонизированных ран (36,4–69,7 % случаев) (табл. 1).

Учитывая постоянство обнаружения *E. faecalis* во всех клинических категориях ХР, можно предположить, что такие признаки, как способность формировать биопленку, низкие и умеренные значения АКА, АИА, АЛА и АА, отсутствие некоторых генетических маркеров вирулентности, определяют *E. faecalis*, негативно влияющие на процесс заживления (колонизированные ХР). В свою очередь, в развитии инфекционного процесса (критически колонизированные и инфицированные ХР) имеют значение *E. faecalis*, обладающие выраженными АА, АИА, АЛА, АКА и имеющие полный комплекс генетических маркеров вирулентности.

Несмотря на наличие генов QS *LasI*/*LasR* и *RhlI*/*RhlR* у всех изолятов *P. aeruginosa* ($n = 34$) фенотипическая способность к синтезу ОВ биопленки отличалась и была выше в колонизированных ХР. Также у *P. aeruginosa* наблюдались различия в степени выраженности персистентных свойств и в частоте встречаемости генов вирулентности (табл. 2).

У *P. aeruginosa*, выделенных из критически колонизированных и инфицированных ХР, в 61,9–85,7 % случаев детектировался ген *exoU.* Доказано, что наличие этого гена определяет наиболее вирулентные *P. aeruginosa.* Продукция экзотоксина *exoU* приводит к быстрому нарушению целостности цитоплазматической мембраны, как при некрозе. Токсическое действие *exoU* направлено главным образом против фагоцитов, а также на преодоление эндотелиального барьера, что способствует бактериальной диссеминации и персистенции [13]. У *P. aeruginosa*, выделенных из колонизированных ХР, ген *exoU* отсутствовал, однако определялся ген *exoS*. Известно, что активность экзотоксина *exoS* направлена на нарушение цитоскелета, что приводит изменению формы клеток и подавлению фагоцитоза *P. aeruginosa.* Отмечают, что гибель иммунных клеток при действии *exoS* позволяет *P. aeruginosa* персистировать в организме [14]. Следовательно, можно предположить, что *exoS*+ *P. aeruginosa* будут иметь значение в задержке раневого заживления, что подтверждается их обнаружением в ХР, не имеющих клинических признаков воспаления.

A. baumannii обнаруживались преимущественно в критически колонизированных и инфицированных ХР и характеризовались присутствием основных генов вирулентности: *pgA*, который участвует в синтезе и транспорте внеклеточного полисахарида – основного компонента матрик-

Т а б л и ц а 1. **Микробиологические характеристики грамположительных изолятов в зависимости от стадии инфекционного процесса в хронической ране**

T a b l e 1. **Microbiological characteristics of gram-positive isolates depending on the stage of the infectious process in a chronic wound**

Признак (характеристика)	К ХР (n = 107)	КК ХР (n = 59)	И ХР (n = 29)	χ^2; p
S. aureus (n = 105):	n = 52	n = 37	n = 16	
icaAD+/*icaBC*+ (синтез адгезина)	40 (79,6)	34 (91,9)	16 (100)	**7,10; 0,030**
умеренная и выраженная способность к синтезу ОВ биопленки	47 (90,4)	29 (78,4)	10 (62,5)	**6,89; 0,031**
умеренная и выраженная способность к образованию БМ биопленки	46 (88,5)	35 (94,6)	15 (93,8)	1,17; 0,58
отсутствие реакции гемолиза	17 (32,7)	6 (16,2)	2 (12,5)	4,57; 0,10
отсутствие лецитовителлазной активности	12 (23,1)	5 (13,5)	2 (12,5)	1,73; 0,46
отсутствие ферментации маннита на агаре	5 (9,6)	2 (5,4)	2 (0)	1,96; 0,34
фибринолитическая активность	14 (29,6)	8 (21,6)	3 (18,8)	0,60; 0,78
протеазная активность	36 (69,2)	31 (83,8)	15 (78,1)	5,38; 0,069
умеренная и выраженная АКА	49 (94,2)	24 (64,9)	5 (31,3)	**28,06; <0,001**
умеренная и выраженная АА	47 (90,4)	23 (62,2)	9 (56,3)	**12,89; 0,001**
умеренная и выраженная АЛА	42 (86,5)	15 (40,5)	3 (18,8)	**32,44; <0,001**
умеренная и выраженная АИА	49 (94,2)	22 (59,5)	8 (50)	**20,48; <0,001**
E. faecalis (n = 56):	n = 33	n = 12	n = 11	
gelE+ (синтез желатиназы)	33 (100)	12 (100)	11 (100)	–
fsrABC+ (регуляторная система желатиназы)	33 (100)	12 (100)	11 (100)	–
asa1+ (синтез адгезина)	23 (69,7)	12 (100)	11 (100)	**8,48; 0,015**
agg+ (синтез агрегационной субстанции)	12 (36,4)	12 (100)	8 (72,7)	**15,91; <0,001**
esp+ (синтез белков биопленки)	20 (60,6)	11 (91,7)	10 (90,9)	**6,52; 0,038**
ace+ (синтез адгезина к коллагену)	12 (36,4)	10 (83,3)	8 (72,7)	**9,82; 0,006**
bop+ (синтез белков биопленки)	33 (100)	12 (100)	11 (100)	–
ebpABC+ (синтез адгезинов)	33 (100)	12 (100)	11 (100)	–
pil+ (образование пилей)	33 (100)	12 (100)	11 (100)	–
умеренная и выраженная способность к синтезу ОВ биопленки	33 (100)	4 (33,3)	2 (18,2)	**42,72; <0,001**
умеренная и выраженная способность к образованию БМ биопленки	25 (75,7)	11 (91,7)	11 (100)	**15,87; 0,003**
выраженная АА	12 (36,4)	12 (100)	11 (100)	**23,42; <0,001**
выраженная АКА	18 (54,5)	12 (100)	11 (100)	**14,28; 0,002**
выраженная АЛА	15 (42,5)	12 (100)	10 (90,9)	**15,51; 0,004**
выраженная АИА	6 (18,2)	12 (100)	11 (100)	**36,34; <0,001**

П р и м е ч а н и е. Здесь и в табл. 2: К ХР, КК ХР, И ХР – колонизированные, критически колонизированные и инфицированные хронические раны соответственно; жирным шрифтом выделены значимые различия.

са биопленки; *abaI* – гена QS, ответственного за синтез сигнальных молекул семейства N-ацилгомосеринлактонов; *csuE*, который кодирует механизм сборки пилей и обеспечивает формирование плотной биопленки; *ompA*, который кодирует фермент инвазии с ДНКазной активностью; *bap*, отвечающего за синтез белков, ассоциированных с биопленкой.

P. mirabilis не во всех случаях проявляли полный комплекс генетических маркеров вирулентности. У *P. mirabilis*, выделенных из колонизированных ран, наиболее редко детектировались ген QS *rsbA*, который отвечает за экспрессию трансмиттера сигнальной системы, и ген *ptaA*, который кодирует синтез токсина с инвазивными свойствами. Степень выраженности патогенных свойств, уровень АА у *P. mirabilis*, выделенных из различных ХР, практически не отличались (табл. 2).

В ХР, проявляющих клинические признаки инфекции, *S. aureus* характеризовались более высоким уровнем резистентности – тремя и более АБС (цефокситин, 30 мкг, эритромицин, гентамицин, левофлоксацин, норфлоксацин, рифампицин, χ^2 = 14,59, p < 0,001), за исключением линезолида, тигециклина, ванкомицина. *S. aureus*, выделенные из колонизированных ХР, в 61,5 % случаев (n = 32) обладали чувствительностью к АБС; в 28,8 % случаев (n = 15) проявляли резистентность к 1–2 АБС (цефокситину, эритромицину). *E. faecalis* проявляли резистентность к 2–4 АБС (норфлоксацину, гентамицину, стрептомицину, эритромицину). У всех изолятов *E. faecalis* регистрировалась чувствительность к линезолиду, тигециклину, тейкопланину. Следует отметить высокий уровень резистентности *P. aeruginosa* к АБС: 76,5 % изолятов (n = 26) были резистентны к 3–5 АБС, 23,5 % – к 6–9 АБС (n = 8), за исключением колистина. *A. baumannii*

Т а б л и ц а 2. **Микробиологические характеристики грамотрицательных изолятов в зависимости от стадии инфекционного процесса в хронической ране**

T a b l e 2. **Microbiological characteristics of gram-negative isolates depending on the stage of the infectious process in a chronic wound**

Признак (характеристика)	К ХР (n = 107)	КК ХР (n = 59)	И ХР (n = 29)	χ^2; p
P. aeruginosa (n = 34):	n = 6	n = 21	n = 7	
LasI+/*LasR*+ (гены QS)	6 (100)	21 (100)	7 (100)	–
RhlI+/*RhlR*+ (гены QS)	6 (100)	21 (100)	7 (100)	–
algD+ (формирование альгината биопленки)	6 (100)	20 (95,2)	7 (100)	0,64; 1,00
pelF+ (синтез полисахарида биопленки)	6 (100)	19 (90,5)	6 (85,7)	0,85; 1,00
pslD+ (синтез полисахарида биопленки)	6 (100)	16 (76,2)	7 (100)	3,63; 0,17
exoU+ (экзотоксин)	0 (0)	13 (61,9)	6 (85,7)	**10,44; 0,004**
exoS+ (экзотоксин)	6 (100)	8 (38,1)	2 (28,6)	**8,39; 0,016**
умеренная и выраженная способность к синтезу ОВ биопленки	6 (100)	11 (52,4)	4 (57,2)	**26,31; <0,001**
выраженное образование БМ биопленки	4 (66,7)	14 (66,7)	3 (42,9)	1,33; 0,61
выраженная АА	3 (50)	3 (14,3)	7 (100)	**18,01; 0,001**
протеазная активность	4 (66,7)	16 (76,2)	6 (85,7)	0,65; 0,86
выраженная АКА	6 (100)	5 (23,8)	7 (100)	**18,71; <0,001**
выраженная АЛА	6 (100)	8 (38,1)	4 (57,1)	**7,24; 0,027**
выраженная АИА	3 (50)	6 (28,6)	5 (71,4)	4,83; 0,31
*A. baumannii** (n = 23):	n = 1	n = 11	n = 11	
abal+ (синтез молекул системы QS)	1 (100)	10 (90,9)	10 (90,9)	–
pgaA+ (синтез полисахарида биопленки)	1 (100)	11 (100)	11 (100)	–
ompA+ (синтез фактора инвазии)	0 (0)	11 (100)	10 (90,9)	1,05; 0,31
csuE+ (регуляция механизма сборки пилей)	1 (100)	11 (100)	10 (90,9)	1,05; 0,31
bap+ (синтез белков биопленки)	1 (100)	9 (81,8)	5 (45,5)	3,14; 0,08
умеренная и выраженная способность к синтезу ОВ биопленки	1 (100)	5 (45,5)	3 (27,3)	1,07; 0,86
выраженное образование БМ биопленки	1 (100)	3 (27,3)	5 (45,5)	0,78; 0,38
выраженная АА	0 (0)	0 (0)	6 (54,5)	**9,14; 0,01**
протеазная активность	0 (0)	5 (45,5)	6 (54,5)	0,18; 0,67
выраженная АКА	0 (0)	1 (9,1)	4 (36,4)	3,91; 0,14
выраженная АЛА	0 (0)	0 (0)	4 (36,4)	**13,60; 0,001**
выраженная АИА	0 (0)	0 (0)	6 (54,5)	**11,09; 0,004**
P. mirabilis (n = 23):	n = 5	n = 10	n = 8	
rsbA+ (ген QS)	2 (40)	9 (90)	8 (100)	**8,38; 0,03**
rsmA+ («роящийся» рост)	2 (40)	8 (80)	6 (75)	2,69; 0,37
mrpA+ (синтез P-фимбрий)	5 (100)	10 (100)	8 (100)	–
pmfA+ (синтез фимбрий)	5 (100)	10 (100)	8 (100)	–
hpmA+ (гемолитическая активность)	2 (40)	7 (70)	6 (75)	1,84; 0,54
zapA+ (синтез металлопротеиназы)	2 (40)	6 (60)	6 (75)	1,59; 0,41
ptaA+ (синтез токсина протея)	2 (40)	8 (80)	8 (100)	**6,54; 0,043**
нарушение «роящегося» роста	3 (40)	2 (20)	2 (25)	2,69; 0,37
умеренная и выраженная способность к синтезу ОВ биопленки	5 (100)	6 (66,7)	5 (62,5)	1,8; 0,82
выраженное образование БМ биопленки	2 (40)	4 (40)	3 (37,5)	0,08; 1,0
выраженная АА	0 (0)	6 (60)	5 (62,5)	6,03; 0,22
протеазная активность	1 (20)	3 (30)	3 (37,5)	0,83; 0,71
выраженная АКА	0 (0)	5 (50)	6 (75)	10,78; 0,078
выраженная АЛА	0 (0)	5 (50)	6 (75)	**12,39; 0,044**
выраженная АИА	0 (0)	4 (40)	4 (50)	9,95; 0,14

П р и м е ч а н и е. * – статистически значимые различия, полученные при сравнении подгрупп пациентов с КК ХР и И ХР.

в 39,1 % случаев (n = 9) были резистентны к 1–2 АБС (ципрофлоксацину, амикацину или тобрамицину), в 43,5 % случаев (n = 10) – к 3–5 АБС (имипенему, меропенему, амикацину, тобрамицину, ципрофлоксацину), и только 4 изолята *A. baumannii* (17,4 %) были чувствительными к АБС. Выявленные показатели резистентности у основных изолятов бактерий, выделенных из ХР, имеющих клинические признаки воспаления, определяют необходимость использования местных

методов санации раны. Это позволит, одной стороны, повысить эффективность проведения системной антибактериальной терапии, а с другой стороны, снизить частоту ее использования за счет реализации бактерицидных и очищающих механизмов физического и механического дебридмента.

Результат морфологического исследования биоптатов грануляционной ткани ХР, не имеющих клинических признаков воспаления (n = 141), показал различную степень выраженности гнойного воспаления, которая в 65,3 % случаев (n = 92) была умеренной (Si 2), в 25,5 % случаев (n = 36) – минимальной (Si 1) и проявлялась слабым или умеренным полнокровием сосудов, отеком эпидермиса и дермы, очаговым скоплением нейтрофилов в поверхностных слоях грануляций, минимальной площадью гнойно-некротического детрита. Реже отмечалась высокая активность воспаления (Si 3, 7,1 %, n = 10). У 3 (2,1 %) пациентов с ХР минимальных сроков давности (22–28 сут) признаки гнойного воспаления в биоптатах отсутствовали. Степень нарушения пролиферации в 50,3 % (n = 71) и 34,1 % (n = 48) случаев соответствовала Sp 2 и Sp 3 и выражалась в присутствии макрофагов и гигантских клеток в инфильтрате и среди грануляционной ткани, в наличии признаков псевдоэпителиоматозной гиперплазии краевого эпителия, а также эластических волокон, гиалиноза стенкой сосудов и межуточного вещества, очагов патологической регенерации. У 12,8 % биоптатов (n = 18) нарушения пролиферации были минимальными (Sp 1), в 2,8 % случаев (n = 4) они отсутствовали (Sp 0).

Степени активности воспаления Si 2 и Si 3 были характерны для колонизированных ХР (n = 107): 74,8 % (n = 80) и 9,3 % (n = 10). Выраженность нарушений пролиферации была аналогичной – Sp 2 (50,5 %, n = 54) и Sp 3 (39,2 %, n = 42). В ХР, имеющих отрицательный результат посева (n = 34), в 55,9 % случаев (n = 19) степень активности воспаления соответствовала Si 1, в 35,3 % (n = 12) – Si 2, в 8,8 % (n = 3) случаев – Si 0. Выраженность нарушений пролиферации в 50 % случаев (n = 17) соответствовала Sp 2, в 26,5 % (n = 9) – Sp 1, в 17,6 % случаев (n = 6) – Sp 3, у 2 пациентов (5,9 %) – Sp 0. Колонизированные ХР в 75,7 % случаев (n = 81) визуально характеризовались патологическими признаками нарушений грануляционной ткани (атрофия, рубцовые изменения). Раны, из которых не высевались микроорганизмы, в 76,5 % случаев (n = 26) были

ISSN 1814-6023 (Print)
ISSN 2524-2350 (Online)
UDC 616:575.174.015.3(574.13)
https://doi.org/10.29235/1814-6023-2023-20-4-347-352

Поступила в редакцию 25.08.2022
Received 25.08.2022

Timur A. Jarkenov[1], Saule T. Zairova[2], Svetlana K. Sakhanova[1]

[1]West Kazakhstan Marat Ospanov Medical University, Aktobe, Republic of Kazakhstan
[2]Talgat Bigeldinov Military Institute of the Air Defence Forces, Aktobe, Republic of Kazakhstan

FREQUENCY DISTRIBUTION OF FOUR CYTOKINE GENE POLYMORPHISMS IN HEALTHY WESTERN KAZAKHSTAN POPULATION

Abstract. This study investigated a range of gene polymorphisms encoding IL-1, IL-6, IL-10, and TNF-α –308 in 100 healthy unrelated Kazakhs using real-time PCR. The findings were compared with published data on other populations. The distribution of genotypes was consistent with the Hardy−Weinberg equilibrium. However, the frequency of cytokine genotypes observed in the Kazakh population showed similarities and differences compared to neighboring ethnic groups. The most noticeable differences compared with Iranians, Turks, Russians, and Chinese were observed in the distribution of IL-1, IL-6, and IL-10 genotypes. The frequency of the TNF-α –308 genotype differed only with the Iranian population. Thus, our study showed a link between cytokine gene polymorphism and ethnicity. These results may be of clinical relevance in understanding the prevalence of diseases in Kazakhstan.

Keywords: allele frequencies, cytokines, gene polymorphism, population study, Kazakh population, Hardy−Weinberg equilibrium

For citation: Jarkenov T. A., Zairova S. T., Sakhanova S. K. Frequency distribution of four cytokine gene polymorphisms in healthy Western Kazakhstan population. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya medytsynskikh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2023, vol. 20, no. 4, pp. 347–352 (in Russian). https://doi.org/10.29235/1814-6023-2023-20-4-347-352

Т. А. Джаркенов[1], С. Т. Заирова[2], С. К. Саханова[1]

[1]Западно-Казахстанский медицинский университет имени Марата Оспанова, Актобе, Республика Казахстан
[2]Военный институт Сил воздушной обороны имени дважды Героя Советского Союза Т. Я. Бегельдинова, Актобе, Республика Казахстан

РАСПРЕДЕЛЕНИЕ ЧАСТОТ ПОЛИМОРФИЗМОВ ЧЕТЫРЕХ ГЕНОВ ЦИТОКИНОВ В ЗДОРОВОЙ ПОПУЛЯЦИИ ЗАПАДНОГО КАЗАХСТАНА

Аннотация. Изучен ряд полиморфизмов генов, кодирующих IL-1, IL-6 и IL-10 и TNF-α –308, у 100 здоровых неродственных казахов с использованием ПЦР в реальном времени. Полученные результаты сравнивали с опубликованными данными по другим популяциям. Распределение генотипов соответствовало равновесию Харди–Вайнберга. Однако наблюдаемая частота генотипов цитокинов в казахской популяции показала сходство и различия по сравнению с соседними этническими группами. Наиболее заметные различия по сравнению с иранцами, турками, русскими и китайцами наблюдались в распределении генотипов IL-1, IL-6 и IL-10. Частота генотипа TNF-α –308 различалась только в иранской популяции. Таким образом, наше исследование показало связь между полиморфизмом генов цитокинов и этнической принадлежностью. Полученные нами результаты могут быть клинически значимы для понимания распространенности заболеваний в Казахстане.

Ключевые слова: частоты аллелей, цитокины, полиморфизм генов, популяционное исследование, казахская популяция, равновесие Харди–Вайнберга

Для цитирования: Джаркенов, Т. А. Распределение частот полиморфизмов четырех генов цитокинов в здоровой популяции Западного Казахстана / Т. А. Джаркенов, С. Т. Заирова, С. К. Саханова // Вес. Нац. акад. навук Беларусі. Сер. мед. навук. – 2023. – Т. 20, № 4. – С. 347–352. https://doi.org/10.29235/1814-6023-2023-20-4-347-352

Introduction. Alleles and genotype frequencies are the main characteristics of a population. Each population contains a specific set of alleles of the different genes, and the range of genotype frequencies characterizes its gene pool. Thus, by studying the genetic composition of a population, it is possible to determine its immunogenetic profile and establish its specific features.

Cytokines constitute pleiotropic proteins involved in the pathogenesis of various multifactorial diseases [1]. Studies on cytokine gene polymorphisms that can lead to an imbalance in the inflammatory immune response are important in researching the body's response characteristics to internal and external stimuli [2]. For many polymorphic cytokine gene sites, the established inter-population differences

© Джаркенов Т. А., Заирова С. Т., Саханова С. К., 2023

are not random but have ethnic patterns and may have been associated with human evolution [3]. Significant genetic differences in cytokine gene polymorphism distribution contributing to differences in disease incidence have been traced by ethnicity and geography [4]. Single nucleotide polymorphisms (SNPs) affect cytokine gene expression and susceptibility to diseases, disease progression, the severity of the clinical condition, and treatment results [5].

There were no reports on the studies that have reported allelic and genotypic diversity of cytokine genes interleukin (IL)-1, IL-6, IL-10, and tumor necrosis factor alpha (TNF-α) among healthy Kazakh adults, compared with other populations. An international database of various cytokine polymorphisms is available on the Allele Frequency Net Database (URL: http://www.allelefrequencies.net/). However, as far as we know, this study is the first to report on the Kazakh population in relation to IL-1, IL-6, IL-10, and TNF-α –308 cytokine genes.

Kazakhstan is a sizable state in Eurasia, located between longitude 45 and 87° East, and latitude 40 and 55° North. Kazakhstan shares borders with Russia, China, Kyrgyzstan, Uzbekistan, and Turkmenistan. The inland Caspian Sea forms approximately half of its western boundary. Kazakhstan has no access to the ocean; it is the largest country in the world without this feature. At the beginning of 2020, its population consisted of various ethnic groups, such as Kazakhs (68.51 %), Russians (18.85 %), and Uzbeks (12.63 %) (Counties and their Cultures, Culture of Kazakhstan (URL: https://www.everyculture.com/Ja-Ma/Kazakhstan.html).

In this study, we analyzed the allelic and genotypic diversity of the cytokine genes IL-1β –511, IL-6 −174, IL-10 −1082, and TNF-α –308 among healthy Kazakh ethnic group adults, and their genetic relationships with various world populations to estimate the prevalence of allelic variants and genotypes of the promoter regions of the cytokine genes IL-1β –511 (rs16944), IL-6 −174 (rs1800795), IL-10 −1082 (rs1800896), and TNF-α –308 (rs1800629) in the healthy, adult Kazakhstan population. Additionally, we compared our results with published data for other populations.

Materials and research methods. *Subjects.* One hundred unrelated healthy Kazakh blood donors were randomly selected from Western Kazakhstan as the study subjects, using the knowledge and speaking of the native Kazakh language to identify the participants' ethnicity. The subjects filled out a questionnaire on nationality and were questioned on the history of marriages with other nationalities in their parents and grandparents. They confirmed that there were no marriages with other ethnic groups and that their native language was Kazakh. All volunteers were over 18 years (60 men and 40 women, mean age 44.7 ± 11.3 years) and received detailed information on the study. All subjects gave written informed consent before their blood samples were collected. They were genotyped for the polymorphism of four cytokine genes (IL-1β −511 C/T, IL-6 −174 G/C, IL-10 −1082 A/G, and TNF-α −308 G/A). The study was approved by the Institutional Review Board of the West Kazakhstan Marat Ospanov Medical University, Aktobe, Kazakhstan, and conducted according to the 1964 Helsinki Declaration.

Deoxyribonucleic acid (DNA) extraction and genotyping. Genomic DNA isolation from peripheral blood leukocytes was performed using reagent kit DNA-Blood-M-100 (TestGen LLC, Russia). The method used by the kit is based on the reversible binding of nucleic acids on the surface of magnetic particles. The genotyping of the polymorphisms in the IL-1 (rs16944), IL-6 (rs1800795), IL-10 (rs1800896), TNF-α −308 G/A (rs1800629) gene was performed using thermal cycler for real time PCR DT-Prime M1 (DNA-technologies, Russia) and reagent kits for TaqMan SNP Genotyping Assays (TestGen, Russia). This method is based on real-time PCR to distinguish between two alleles of a particular SNP for use in genotyping studies. The TestGene reagent kits contained PCR primers and hybridization probes with terminal fluorescent dye (FAM) and fluorescence quencher (HEX) for each studied variant of genetic polymorphism (mutation). A round of temperature melting of the duplexes formed by the amplicons and signal probes was performed during the PCR, and the changes in fluorescence levels were recorded and graphically presented by the thermocycler software.

Statistical analysis. The allele and genotype frequencies were calculated by direct counting. Next, the observed and expected frequencies were compared using the χ^2 test to check the Hardy−Weinberg equilibrium (HWE). The HWE hypothesis is rejected at the 5 % significance level ($p > 0.05$). The online HWE calculator (URL: https://wpcalc.com/en/equilibrium-hardy-weinberg/) was used for the calculation. Finally, the cytokine genotypic frequencies studied in the compared populations were assessed using the exact χ^2 test. A two-tailed type I error of $p \leq 0.05$ at 95 % CI was assumed to be statistically sig-

nificant for all tests. All calculations were performed using the statistical software package Statistica 10.0 (Dell Technologies, Texas, USA).

Research results. The frequencies of alleles and genotypes in the Western Kazakhstan population are presented in Table 1. The distribution of frequencies in IL-1β –511, IL-6 −174, IL-10 −1082, and TNF-α –308 polymorphic genes did not significantly differ from the HWE, indicating a random distribution and lack of evolutionary forces acting in the formation of frequencies from these gene polymorphisms. The observed and expected frequencies were shown by the HWE ($p > 0.05$).

T a b l e 1. **Allele and genotype frequencies of four Kazakh population cytokine gene polymorphisms (*n* = 100)**

Cytokine polymorphisms	Alleles/ genotypes observed	*N*	Genotype frequency	HWE *p*-value
IL-1β –511	C	118 (59.0)	0.590	
	T	82 (41.0)	0.410	
	CC	36 (36.0)	0.360	0.886
	CT	46 (46.0)	0.460	
	TT	18 (18.0)	0.180	
IL-6 –174	C	26 (13.0)	0.130	
	G	174 (87.0)	0.870	
	CC	3 (3.0)	0.030	0.511
	CG	20 (20.0)	0.200	
	GG	77 (77.0)	0.770	
IL-10 –1082	A	160 (80.0)	0.800	
	G	40 (20.0)	0.200	
	AA	64 (64.0)	0.640	1.0
	AG	32 (32.0)	0.320	
	GG	4 (4.0)	0.040	
TNF-α –308	A	17 (8.5)	0.085	
	G	183 (91.5)	0.915	
	AA	0 (0.0)	0	0.650
	AG	17 (17.0)	0.170	
	GG	83 (83.0)	0.830	

N o t e. N – number of alleles (genotypes) observed; HWE – Hardy–Weinberg Equilibrium.

A comparison of the population ratios of cytokine alleles and genotype frequencies revealed significant differences between the Kazakh population data from this study and the data obtained for the Iranian [6, 7], Turkish [8, 9], Russian [10, 11], and Chinese [12, 13] ethnic groups (Table 2).

IL-1β –511. The CC genotype in the Kazakh population showed a significantly higher frequency than the Turks (36 % vs 22.9 %, $p = 0.039$) and Chinese (36 % vs 22.3 %, $p = 0.007$). The CT genotype in the Kazakh population was significantly lower than that of the Turks (46 % vs 62.9 %, $p = 0.015$), albeit higher than the Russians (46 % vs 33.6 %, $p = 0.032$).

IL-6 −174. The CC genotype in the Kazakh population showed a lower frequency than the Russians (3 % vs 23.2 %, $P < 0.001$) and a higher frequency than the Chinese (3 % vs 0 %, $p < 0.001$). The CG genotype in the Kazakh population was significantly lower than in the Iranian (20 % vs 68.7 %, $p < 0.001$) and the Russian populations (20 % vs 55 %, $p < 0.001$), but was significantly higher than in the Chinese population (20 % vs 1 %, $p < 0.001$). The GG genotype in Kazakhs showed a higher frequency than the Iranians (77 % vs 27.4 %, $p < 0.001$), Turks (77 % vs 63.9 %, $p = 0.039$), and Russians (77 % vs 21.8 %, $p < 0.001$); however, the frequency in the Chinese was higher (77 % vs 99 %, $p < 0.001$).

IL-10 −1082. The AA genotype in the Kazakh population showed a higher frequency than the Iranians (64 % vs 31.8 %, $p < 0.001$), Turks (64 % vs 37.8 %, $p < 0.001$), and Russians (64 % vs 16.8 %, $p < 0.001$), but was lower compared with the Chinese (64 % vs 89.3 %, $p < 0.001$). The GA genotype in the Kazakh population was significantly lower than in the Iranian (32 % vs 62.1 %, $p < 0.001$), Turkish (32 % vs 51.5 %, $p = 0.005$), and Russian populations (32 % vs 50 %, $p = 0.002$), but higher than in the Chinese population (32 % vs 9.7 %, $p < 0.001$). The GG genotype in Kazakhs showed a lower frequency than the Russians (4 % vs 33.2 %, $p < 0.001$) but higher than the Chinese (4 % vs 1 %, $p = 0.048$).

T a b l e 2. **Genotype frequencies of four Kazakh population cytokines compared with other populations, *n* (%)**

Cytokine position genotypes	Kazakhs	Iranians[1, 2]	Turks[3, 4]	Russians[5, 6]	Chinese[7, 8]
IL-1β (–511):	*n* = 100	[1]*n* = 312	[3]*n* = 105	[5]*n* = 238	[7]*n* = 300
CC	36 (36.0)	82 (26.3)	24 (22.9)[a]	100 (42.0)	67 (22.3)[b]
CT	46 (46.0)	159 (51.0)	66 (62.9)[c]	80 (33.6)[d]	163 (54.3)
TT	18 (18.0)	71 (22.7)	15 (14.2)	58 (24.4)	70 (23.3)
IL-6 (–174):	*n* = 100	[2]*n* = 261	[4]*n* = 108	[5]*n* = 238	[8]*n* = 608
CC	3 (3.0)	10 (3.9)	5 (4.6)	55 (23.2)[e]	0 (0)[e]
CG	20 (20.0)	178 (68.7)[e]	34 (31.5)	131 (55.0)[e]	6 (1.0)[e]
GG	77 (77.0)	71 (27.4)[e]	69 (63.9)[f]	52 (21.8)[e]	599 (99.0)[e]
IL-10 (–1082):	*n* = 100	[2]*n* = 261	[3]*n* = 105	[5]*n* = 238	[7]*n* = 300
AA	64 (64.0)	83 (31.8)[e]	39 (37.8)[e]	40 (16.8)[e]	268 (89.3)[e]
GA	32 (32.0)	162 (62.1)[e]	53 (51.5)[g]	119 (50.0)[h]	29 (9.7)[e]
GG	4 (4.0)	16 (6.1)	11 (10.7)	79 (33.2)[e]	3 (1.0)[i]
TNF-α (–308):	*n* = 100	[2]*n* = 261	[3]*n* = 105	[6]*n* = 217	[8]*n* = 608
AA	0 (0.0)	1 (0.4)	1 (0.9)	2 (0.9)	3 (0.5)
AG	17 (17.0)	84 (33.0)[j]	18 (17.1)	40 (18.4)	92 (15.2)
GG	83 (83.0)	170 (66.6)[k]	86 (82.0)	175 (80.6)	510 (84.3)

N o t e. Kazakh population: Kazakhs, $n = 100$ (our finding); 1 – Iranians, $n = 312$ (Khosravi et al., 2015); 2 – Iranians, $n = 261$ (Amirzargar et al., 2006); 3 – Turks, $n = 105$ (Çelik et al., 2006); 4 – Turks, $n = 108$ (Karaman et al., 2015); 5 – Russians, $n = 238$ (Samgina et al., 2017); 6 – Russians, $n = 217$ (Samgina et al., 2014); 7 – Chinese, $n = 300$ (Lu et al., 2005); 8 – Chinese, $n = 608$ (Wu et al., 2019). Differences in genotype and allele frequencies were compared using the χ^2 test: a – $p = 0.039$; b – $p = 0.007$; c – $p = 0.015$; d – $p = 0.032$; e – $p < 0.001$; f – $p = 0.039$; g – $p = 0.005$; h – $p = 0.002$; i – $p = 0.048$; j – $p = 0.003$; k – $p = 0.002$.

TNF-α −308. The frequencies of alleles and genotypes in the Kazakh population significantly differed from the Iranian population only. The AP genotype in the Kazakh population showed a lower frequency than the Iranians (17 % vs 33 %, $p = 0.003$). Conversely, the GG genotype in the Kazakh population was significantly higher than in the Iranian population (83 % vs 66.6 %, $p = 0.002$). The distribution of allele and genotype frequencies in the Kazakh population was similar to the Turkish, Russian, and Chinese ethnic groups.

Discussion. Various cytokine gene polymorphisms associated with ethnic diversity can predispose a population to various diseases and can thus be used as a tool for anthropological research; these developments are important for improving the diagnosis, prognosis, and treatment of the disease [14]. This study was conducted in the Aktobe region of West Kazakhstan and is the first to describe the frequency of cytokine genotypes in the Kazakh population, demonstrating similarities and significant differences with the other populations. The results of cytokine gene polymorphisms and their association with ethnicity are presented in the literature [14, 15]. A comparison of the different population groups revealed similarities in cytokine genotypes and features of population distributions [16, 17]; however, there were no studies on the Kazakh population.

Interleukin-1, a central mediator of innate immunity and inflammation, is actively involved in the development of autoimmune, infectious, degenerative, and especially auto-inflammatory diseases. The interactions between bacterial agents, the environment, and genetic factors play an important role in the progression of tuberculosis. There is evidence that IL-1β may be associated with susceptibility to tuberculosis [12]. In 2019, the incidence of tuberculosis in Kazakhstan was 45.6 per 100,000 population (URL: https://pharm.reviews/images/document/sbornik-2019-compressed.pdf). This study determined the population distributions of IL-1 genotypes in Kazakhs compared to other population groups (Table 2). As mentioned, the CC genotype in the Kazakh population showed a higher frequency compared to the Turks and Chinese, while the CT genotype of the Kazakh population was significantly lower than that of the Turks. Genetically modified cytokine molecules affect the immune response. Therefore, studying the association of IL-1β gene polymorphism in tuberculosis patients within the Kazakh population may increase our knowledge for future studies on disease risks.

Interleukin-6 is a multifunctional cytokine that mediates inflammatory and stress-induced reactions. There is strong evidence for associating IL-6 with the development of atherosclerotic cardiovascular

disease [18], which is the main cause of morbidity and mortality worldwide. In 2019, the incidence of coronary heart disease in Kazakhstan reached 554.8 per 100,000 population (URL: https://pharm.reviews/images/document/sbornik-2019-compressed.pdf). Our results showed that the CC genotype in the Kazakh population had a lower frequency than in the Russians and a higher frequency than in the Chinese (Table 2). The CG genotype in the Kazakh population was significantly lower than in the Iranian and Russian populations but higher than in the Chinese. The GG genotype in Kazakhs showed a higher frequency than in Iranians, Turks, and Russians, but a lower frequency than in the Chinese; therefore, IL-6 genetic profile analysis in the Kazakh population can elucidate specific features of coronary heart disease incidence in the Kazakh population.

Interleukin-10 exhibits both immunosuppressive and antiangiogenic functions. A significant correlation exists between the IL-10 −1082 G/G genotype and an increased risk of breast cancer [19]. In 2019, the death rate from breast cancer in Kazakhstan was 6.1 per 100,000 female population (URL: https://pharm.reviews/images/document/sbornik-2019-compressed.pdf). According to our study, the AA genotype in the Kazakh population showed a higher frequency than the Iranians, Turks, and Russians but a lower frequency than the Chinese (Table 2). The GA genotype in the Kazakh population was significantly lower than in the Iranian, Turkish, and Russian populations but higher than in the Chinese population. Therefore, studying cytokine polymorphisms associated with the risk of breast cancer in the Kazakh population would be reasonable.

TNF-α is involved in systemic inflammation and primarily in the regulation of immune cells. In addition, TNF-α –308 G/A is involved in insulin resistance and is a candidate gene for type 2 diabetes susceptibility [20]. The incidence of diabetes mellitus in Kazakhstan in 2019 was 251.0 per 100,000 (URL: https://pharm.reviews/images/document/sbornik-2019-compressed.pdf). According to our data, the genotype frequencies in the Kazakh population significantly differed from the Iranian population only (Table 2). However, the distribution of genotype frequencies in the Kazakh population was the same as in the Turkish, Russian, and Chinese ethnic groups. Accordingly, it would be desirable to establish an association of TNF-α-308 gene polymorphism in patients with type 2 diabetes mellitus in the Kazakh population.

Conclusion. The data obtained are of interest for further studies on the association of cytokine gene polymorphisms with clinical course and possible outcomes of some topical multifactorial diseases. This study has demonstrated differences in the frequency distribution of some genotypes within the Kazakh population compared to other ethnic groups that might be clinically significant. However, the small number of participants was a major limitation; therefore, we cannot extrapolate the conclusions to the entire Kazakh ethnic group. Additionally, there was a lack of data on other cytokine polymorphisms. Therefore, larger studies are needed to confirm the initial findings and assess the significance of cytokine gene polymorphisms in predisposition to diseases to enhance our knowledge of the risk of different pathologies in the Kazakh population.

Conflicts of interest. The authors declare no conflict of interest.

Acknowledgements. The study was supported by a grant from the Marat Ospanov West Kazakhstan Medical University.

Благодарности. Исследование поддержано грантом Западно-Казахстанского медицинского университета имени Марата Оспанова.

References

1. Dinarello C. A. Historical insights into cytokines. *European Journal of Immunology*, 2007, vol. 37, suppl. 1, pp. 34−45. https://doi.org/10.1002/eji.200737772

2. Bhushan S., Perumal N. B. Disease associated cytokine SNPs database: an annotation and dissemination model. *Cytokine*, 2012, vol. 57, no. 1, pp. 107−112. https://doi.org/10.1016/j.cyto.2011.10.009

3. Baena A., Leung J. Y., Sullivan A. D., Landires I., Vasquez-Luna N., Quinones-Berrocal J. [et al.]. TNF-α promoter single nucleotide polymorphisms are markers of human ancestry. *Genes and Immunity*, 2002, vol. 3, no. 8, pp. 482–487. https://doi.org/10.1038/sj.gene.6363898

4. Chu W. M. Tumor necrosis factor. *Cancer Letters*, 2013, vol. 328, no. 2, pp. 222−225. https://doi.org/10.1016/j.canlet.2012.10.014

5. Jarkenov T. A., Skipenko O. G., Zhumabaev M. N., Zairova S. T., Akataev N. A., Yessenbaev D. B., Mukushev M. M., Nurmanov K. Zh., Balshambaev M. E. The association of tumor necrosis factor-α gene polymorphism with the severity of acute pancreatitis: a systematic review. *Novosti khirurgii* [Surgery news], 2020, vol. 28, no. 3, pp. 309–317. https://doi.org/10.18484/2305-0047.2020.3.309

6. Zabaleta J., Schneider B. G., Ryckman K., Hooper P. F., Camargo M. C., Piazuelo M. B. [et al.]. Ethnic differences in cytokine gene polymorphisms: potential implications for cancer development. *Cancer Immunology, Immunotherapy*, 2008, vol. 57, no. 1, pp. 107–114. https://doi.org/10.1007/s00262-007-0358-4

7. Amirzargar A., Sadeghi M., Khosravi F., Dianat S., Naroueynejad M., Nicknam M. H., Hatmi N., Ansaripour B., Moradi B., Nikbin B. Th1 and Th2 cytokine gene polymorphisms in two indigenous ethnic groups in Iran. *International Journal of Immunogenetics*, 2006, vol. 33, no. 6, pp. 429–437. https://doi.org/10.1111/j.1744-313X.2006.00636.x

8. Khosravi A., Javan B., Tabatabaiefar M. A., Ebadi H., Fathi D., Shahbazi M. Association of interleukin-1 gene cluster polymorphisms and haplotypes with multiple sclerosis in an Iranian population. *Journal of Neuroimmunology*, 2015, vol. 288, pp. 114–119. https://doi.org/10.1016/j.jneuroim.2015.09.009

9. Çelik Y., Dagli Ü., Kiliç M. Y., Törüner M., Özen S. C., Özkan M., Soykan I., Çetinkaya H., Ülker A., Özden A., Bozdayi A. M. Cytokine gene polymorphisms in Turkish patients with inflammatory bowel disease. *Scandinavian Journal of Gastroenterology*, 2006, vol. 41, no. 5, pp. 559−565. https://doi.org/10.1080/00365520500349523

10. Karaman E., Kucuk M. U., Bayramoglu A., Göçmen S. U., Ercan S., Guler H. I., Kucukkaya Y., Erden S. Investigation of relationship between IL-6 gene variants and hypertension in Turkish population. *Cytotechnology*, 2015, vol. 67, no. 6, pp. 947–954. https://doi.org/10.1007/s10616-014-9732-1

11. Samgina T. A., Bushueva O. Yu., Ivanov V. P., Solodilova M. A., Nazarenko P. M., Polonikov A. V. The association study of the promoter polymorphism –308G>A of tumor necrosis factor gene with the development and severity of acute pancreatitis in Russian population of Kursk region. *Eksperimental'naya i klinicheskaya gastroenterologiya* [Experimental and clinical gastroenterology], 2014, no. 9, pp. 17−20 (in Russian).

12. Samgina T. A., Zhivotova G. A., Nazarenko P. M., Polonikov A. V. The role of cytokine genetic polymorphism in development of acute pancreatitis: analysis of intergenic and environmental interactions. *Rossiiskii zhurnal gastroenterologii, gepatologii, koloproktologii* [Russian journal of gastroenterology, hepatology, coloproctology], 2017, vol. 27, no. 3, pp. 27–33 (in Russian).

13. Wu S., Wang M., Wang Y., He J. Polymorphisms of cytokine genes and tuberculosis in two independent studies. *Scientific Reports*, 2019, vol. 9, no. 1, art. 2507. https://doi.org/10.1038/s41598-019-39249-4

14. Lu W., Pan K., Zhang L., Lin D., Miao X., You W. Genetic polymorphisms of interleukin (IL)-1B, IL-1RN, IL-8, IL-10 and tumor necrosis factor and risk of gastric cancer in a Chinese population. *Carcinogenesis*, 2005, vol. 26, no. 3, pp. 631−636. http://doi.org/10.1093/carcin/bgh349

15. van Dyke A. L., Cote M. L., Wenzlaff A. S., Land S., Schwartz A. G. Cytokine SNPs: Comparison of allele frequencies by race and implications for future studies. *Cytokine*, 2009, vol. 46, no. 2, pp. 236−244. https://doi.org/10.1016/j.jneuroim.2015.09.009

16. Kurdistani Z. K., Saberi S., Talebkhan Y., Oghalaie A., Esmaeili M., Mohajerani N. [et al.]. Distribution of cytokine gene single nucleotide polymorphisms among a multi-ethnic Iranian population. *Advanced Biomedical Research*, 2015, vol. 4, p. 160. https://doi.org/10.4103/2277-9175.161809

17. Alhamad E. H., Cal J. G., Shakoor Z., Almogren A. Cytokine gene polymorphisms of TNFα, IL-6, IL-10, TGFβ and IFNγ in the Saudi population. *British Journal of Biomedical Science*, 2013, vol. 70, no. 3, pp. 104−109. https://doi.org/10.1080/09674845.2013.11669944

18. Santovito A., Gendusa C., Matini A., Ferraro F., Musso I., Costanzo M., Delclos A., Cervella P. Frequency distribution of six cytokine gene polymorphisms in North- and South-Italy. *International Journal of Immunogenetics*, 2017, vol. 44, no. 4, pp. 158−163. https://doi.org/10.1111/iji.12324

19. Wainstein M. V., Mossmann M., Araujo G. N., Gonçalves S. C., Gravina G. L., Sangalli M. [et al.]. Elevated serum interleukin-6 is predictive of coronary artery disease in intermediate risk overweight patients referred for coronary angiography. *Diabetology and Metabolic Syndrome*, 2017, vol. 9, art. 67. https://doi.org/10.1186/s13098-017-0266-5

20. Zhu Z., Liu J. B., Liu X., Qian L. Association of interleukin 10 rs1800896 polymorphism with susceptibility to breast cancer: a meta-analysis. *Journal of International Medical Research*, 2020, vol. 48, no. 4, art. 300060520904863. https://doi.org/10.1177/0300060520904863

21. Ayelign B., Genetu M., Wondmagegn T., Adane G., Negash M., Berhane N. TNF-α (-308) gene polymorphism and type 2 diabetes mellitus in ethiopian diabetes patients. *Diabetes, Metabolic Syndrome and Obesity*, 2019, vol. 12, pp. 2453–2459. https://doi.org/10.2147/DMSO.S229987

Information about the authors

Timur A. Jarkenov – D. Sc. (Med.), Professor. West Kazakhstan Marat Ospanov Medical University (68, Maresyev Str., 030019, Aktobe, Republic of Kazakhstan). https://orcid.org/0000-0003-4579-6412. E-mail: timurjarkenov@zkmu.kz

Saule T. Zairova – Ph. D. (Med.), Head of the psychological support service. Military Institute of Air Defense named after T. J. Begeldinov (39, Aliya Moldagulova Ave., 030012, Aktobe, Republic of Kazakhstan). https://orcid.org/0000-0003-1896-2307. E-mail: zairova.saule@gmail.com

Svetlana K. Sakhanova – D. Sc. (Med.), Professor, Head of the scientific and practical center. West Kazakhstan Marat Ospanov Medical University (68, Maresyev Str., 030019, Aktobe, Republic of Kazakhstan). https://orcid.org/0000-0001-9786-6326. E-mail: Sakhanova68@zkmu.kz

Информация об авторах

Джаркенов Тимур Агатаевич – д-р мед. наук, профессор. Западно-Казахстанский медицинский университет имени Марата Оспанова (ул. Маресьева, 68, 030019, г. Актобе, Республика Казахстан). https://orcid.org/0000-0003-4579-6412. E-mail: timurjarkenov@zkmu.kz

Заирова Сауле Тимуровна – канд. мед. наук, начальник службы психологического обеспечения. Военный институт Сил воздушной обороны имени дважды Героя Советского Союза Т. Я. Бегельдинова (пр. Алии Молдагуловой, 39, 030012, г. Актобе, Республика Казахстан). https://orcid.org/0000-0003-1896-2307. E-mail: zairova.saule@gmail.com

Саханова Светлана Калиуллаевна – д-р мед. наук, профессор, руководитель научно-практического центра. Западно-Казахстанский медицинский университет имени Марата Оспанова (ул. Маресьева, 68, 030019, г. Актобе, Республика Казахстан). https://orcid.org/0000-0001-9786-6326. E-mail: Sakhanova68@zkmu.kz