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

ВЕСЦІ
НАЦЫЯНАЛЬНАЙ АКАДЭМІІ НАВУК БЕЛАРУСІ

СЕРЫЯ МЕДЫЦЫНСКІХ НАВУК. 2024. Т. 21, № 3

ИЗВЕСТИЯ
НАЦИОНАЛЬНОЙ АКАДЕМИИ НАУК БЕЛАРУСИ

СЕРИЯ МЕДИЦИНСКИХ НАУК. 2024. Т. 21, № 3

Журнал основан в 2004 г.

Выходит четыре раза в год

Учредитель – Национальная академия наук Беларуси

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

Журнал входит в Перечень научных изданий Республики Беларусь
для опубликования результатов диссертационных исследований,
включен в 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
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 НАН 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
Д. В. Тапальский – Институт физиологии Национальной академии наук Беларуси, Минск, Республика Беларусь
Л. П. Титов – Республиканский научно-практический центр микробиологии и эпидемиологии, Минск, Республика Беларусь

Редакционный совет

Эдуардас Алекнавичиус – Национальный институт рака, Вильнюс, Литовская Республика
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
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. 2024. Т. 21, № 3
Выходит на русском, белорусском и английском языках

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

Подписано в печать 07.08.2024. Выход в свет 28.08.2024. Формат 60×84 $^{1}/_{8}$. Бумага офсетная.
Печать цифровая. Усл. печ. л. 10,23. Уч.-изд. л. 11,3. Тираж 38 экз. Заказ 159.
Цена номера: индивидуальная подписка – 14,01 руб., ведомственная подписка – 32,74 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, 2024

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

PROCEEDINGS
OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF BELARUS

MEDICAL SERIES, 2024, vol. 21, no. 3

The Journal was founded in 2004

Issued four times a year

Founder is the National Academy of Sciences of Belarus

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

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

Editor-in-Chief

Vasiliy 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 (*Leading 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 for Pulmonology and Tuberculosis, Minsk, Republic of Belarus
Sergei L. Kabak – Belarusian State Medical University, Minsk, Republic of Belarus
Nina P. Kanunnikova – Yanka Kupala State University of Grodno, Grodno, Republic of Belarus
Sergei A. Krasny – N. N. Alexandrov National Cancer Centre", Minsk, Republic of Belarus
Natalia P. Mitkovskaya – Republican Scientific and Practical Centre of 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
Alexandr V. Strotsky – Belarusian State Medical University, Minsk, Republic of Belarus
Dmitry V. Tapalsky – Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus

Leonid P. Titov – Republican Scientific and Practical Centre of Microbiology and Epidemiology, 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
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

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, 2024, vol. 21, no. 3.

Printed in Russian, Belarusian and English languages

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

It is sent of the press 07.08.2024. Appearance 28.08.2024. Format 60×84 $^{1}/_{8}$. Offset paper. The press digital.
Printed pages 10.23. Publisher's signatures 11.3. Circulation 38 copies. Order 159.
Number price: individual subscription – 14.01 byn., departmental subscription – 32.74 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, 2024

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

ЗМЕСТ

КЛІНІЧНАЯ І ЭКСПЕРЫМЕНТАЛЬНАЯ МЕДЫЦЫНА

Басалай А. А., Митюкова Т. А., Кузнецова Т. Е., Чудиловская Е. Н., Полулях О. Е., Костюченко Н. С., Щербаков Я. В., Губкин С. В. Влияние диет-индуцированного ожирения и немедикаментозных вариантов его коррекции на функциональные и морфологические характеристики печени у самок крыс линии Вистар 183

Строцкий А. В., Образков К. О., Ясюкайть Д. Р. Неинвазивная оценка динамики изменения сосудистого русла в буккальном аутографте при лечении протяженных стриктур уретры 194

Сошникова Е. В., Ильясевич И. А., Тесаков Д. К., Герасименко М. А., Пустовойтов К. В. Применение нейрофизиологических исследований в диагностике и обосновании нейрохирургического лечения кифотической деформации на почве врожденной аномалии развития позвоночника 203

Рубникович С. П., Денисова Ю. Л., Богдан Г. В. Сравнительный анализ состояния периимплантационных тканей после непосредственной и отсроченной имплантации (*на англ. яз.*)..... 213

Ким Л. Б., Путятина А. Н., Русских Г. С., Троицкий А. В. Состояние внеклеточного матрикса селезенки при введении липосомальной формы декстразида мышам в периоде хронического БЦЖ-индуцированного гранулематоза 219

Орловский Ю. Н., Гаин Ю. М., Владимирская Т. Э., Юрага Т. М., Чернов О. Н. Экспериментальное моделирование стриктуры холедохоеюноанастомоза..... 231

Кузнецов О. Е., Цыркунов В. М., Ершова М. В., Парай И. Л. Изменения биохимических показателей крови при первичном раке печени, ассоциированном с вирусами..... 241

Чумаченко М. С., Корик Е. О., Рябцева С. Н., Семак И. В. Пул свободных аминокислот и их производных в коже крыс и морфологическая структура кожи при остром аллергическом контактном дерматите..... 251

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

CONTENTS

CLINICAL AND EXPERIMENTAL MEDICINE

Basalai A. A., Mityukova T. A., Kuznetsova T. E., Chudilovskaya K. N., Poluliakh O. Y., Kastsiuchenka M. S., Shcherbakov Ya. V., Hubkin S. V. Effect of diet-induced obesity and non-drug options of its correction on the functional and morphological liver characteristics in female Wistar rats 183

Strotsky A. V., Obrazkov K. O., Yasiukaits D. R. Non-invasive assessment of the dynamics of change in the vascular bed in the buccal autograph during treatment of extended urethral strictures 194

Soshnikova E. V., Ilyasevich I. A., Tesakov D. K., Gerasimenko M. A., Pustovoitov K. V. Application of neurophysiological studies for diagnosis and justification of neurosurgical treatment of kyphotic deformity due to the congenital anomaly of the spine 203

Rubnikovich S. P., Denisova Yu. L., Bogdan G. V. Comparative analysis of the state of peri-implantation tissues after immediate and delayed implantation 213

Kim L. B., Putyatina A. N., Russkikh G. S., Troitskij A. V. Liposome-encapsulated dextrazide modifies spleen extracellular matrix composition in mice with chronic BCG-induced inflammation 219

Arlouski Yu. N., Gain Yu. M., Vladimirskaya T. E., Yuraga T. M., Chernov O. N. Experimental modeling of the choledochojunoanastomosis stricture 231

Kuzniatsou A. E., Tsyrkunov V. M., Ershova M. V., Parai I. L. Changes in biochemical blood indicators in primary liver cancer associated with viruses 241

Chumachenko M. S., Korik E. O., Rjabceva S. N., Semak I. V. Free amino acid pool in the rat skin and the skin morphological structure in acute allergic contact dermatitis 251

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

КЛІНІЧНАЯ І ЭКСПЕРЫМЕНТАЛЬНАЯ МЕДЫЦЫНА

CLINICAL AND EXPERIMENTAL MEDICINE

УДК 616.36:613.2.038:796.012.6
https://doi.org/10.29235/1814-6023-2024-21-3-183-193

Поступила в редакцию 10.03.2023
Received 10.03.2023

А. А. Басалай, Т. А. Митюкова, Т. Е. Кузнецова, Е. Н. Чудиловская, О. Е. Полулях, Н. С. Костюченко, Я. В. Щербаков, С. В. Губкин

Институт физиологии НАН Беларуси, Минск, Республика Беларусь

ВЛИЯНИЕ ДИЕТ-ИНДУЦИРОВАННОГО ОЖИРЕНИЯ И НЕМЕДИКАМЕНТОЗНЫХ ВАРИАНТОВ ЕГО КОРРЕКЦИИ НА ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ И МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ПЕЧЕНИ У САМОК КРЫС ЛИНИИ ВИСТАР

Аннотация. Неалкогольная жировая болезнь печени является одним из неблагоприятных последствий ожирения. Однако экспериментальные исследования механизмов развития данной патологии проводятся преимущественно на самцах грызунов, а сведения о развитии жирового гепатоза у самок являются недостаточными.

Цель исследования – изучить влияние диет-индуцированного ожирения и немедикаментозных вариантов его коррекции на морфологические характеристики печени и показатели печеночного метаболизма у самок крыс линии Вистар.

Опыты проводились на половозрелых самках крыс линии Вистар и включали изучение морфологических и биохимических показателей функционального состояния печени у животных при стандартной диете (СтД, 16 недель), при высококалорийном питании (ВКД, 16 недель), при переходе к стандартной диете (ВКД/СтД, 8/8 недель), при подключении физических нагрузок в виде бега на тредмиле (СтД + бег, ВКД + бег и ВКД/СтД + бег, 8/8 недель).

Длительное применение ВКД у самок крыс вызывало висцеральное ожирение, жировую дистрофию печени с нарушением гистоархитектоники органа, сдвиги печеночного метаболизма и нарастание процессов перекисного окисления липидов. Коррекция диет-индуцированного ожирения путем перехода на СтД приводила к полной либо частичной нормализации изученных показателей. У крыс группы «ВКД + бег» метаболические нарушения часто носили более выраженный характер, чем в группе «ВКД». При переходе на ВКД/СтД + бег отмечалось наиболее полное восстановление метаболизма и гистоструктуры печени с признаками регенерации органа.

Таким образом, оптимальная коррекция висцерального ожирения, жировой дистрофии печени и ее метаболизма невозможна без нормализации рациона питания у самок крыс линии Вистар. Дополнительный регенерирующий эффект в отношении гистоструктуры печени достигается при сочетанном варианте коррекции – при переходе к сбалансированному питанию и умеренным физическим нагрузкам.

Ключевые слова: самки крыс, высококалорийная диета, жировое перерождение печени, печеночный метаболизм, коррекция жирового гепатоза

Для цитирования: Влияние диет-индуцированного ожирения и немедикаментозных вариантов его коррекции на функциональные и морфологические характеристики печени у самок крыс линии Вистар / А. А. Басалай [и др.]. // Вес. Нац. акад. навук Беларусі. Сер. мед. навук. – 2024. – Т. 21, № 3. – С. 183–193. https://doi.org/10.29235/1814-6023-2024-21-3-183-193

Anastasia A. Basalai, Tatyana A. Mityukova, Tatyana E. Kuznetsova, Katerina N. Chudilovskaya, Olga Y. Poluliakh, Mikita S. Kastsiuchenka, Yakov V. Shcherbakov, Siarhei V. Hubkin

Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus

EFFECT OF DIET-INDUCED OBESITY AND NON-DRUG OPTIONS OF ITS CORRECTION ON THE FUNCTIONAL AND MORPHOLOGICAL LIVER CHARACTERISTICS IN FEMALE WISTAR RATS

Abstract. A nonalcoholic fatty liver disease is one of the unfavorable consequences of obesity. However, experimental studies on the mechanisms of this pathology development are being carried out mainly on male rodents, and the data on the development of fatty hepatosis in females are insufficient.

The aim of the study was to investigate the effect of diet-induced obesity and non-drug options for its correction on the morphological liver characteristics and liver metabolic parameters in female Wistar rats.

Experiments were conducted on sexually mature female Wistar rats and included the study of morphological and biochemical parameters of the liver functional state in animals kept on standard diet (StD, 16 weeks), on a high-calorie diet (HCD, 16 weeks) when switching to a standard diet (HCD/StD, 8/8 weeks), when the physical activity in the form of treadmill running was included (StD + running, HCD + running and HCD/StD + running, 8/8 weeks).

Long-term use of HCD in female rats caused visceral obesity, liver fatty dystrophy with disruption of organ histoarchitectonics, shifts in hepatic metabolism and increased lipid peroxidation. Correction of diet-induced obesity by switching to StD led to a complete or partial normalization of the studied indices. In the "HCD + running" group, metabolic disorders are often more pronounced than in the "HCD" group. The transition to HCD/StD + running promoted the most complete restoration of metabolism and histostructure of the liver with regeneration signs of the organ.

Thus, an optimal correction of visceral obesity, fatty liver dystrophy and its metabolism is impossible without diet normalization in female Wistar rats. An additional regenerating effect with respect to the liver histostructure is achieved with a combined variant of correction – transition to a balanced diet and moderate physical activity.

Keywords: female rats, high-calorie diet, fatty liver, hepatic metabolism, correction of fatty hepatosis

For citation: Basalai A. A., Mityukova T. A., Kuznetsova T. E., Chudilovskaya K. N., Poluliakh O. Y., Kastsiuchenka M. S., Shcherbakov Ya. V., Hubkin S. V. Effect of diet-induced obesity and non-drug options of its correction on the functional and morphological liver characteristics in female Wistar rats. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya medytsynskikh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2024, vol. 21, no. 3, pp. 183–193 (in Russian). https://doi.org/10.29235/1814-6023-2024-21-3-183-193

Введение. Известно, что основной причиной ожирения является дисбаланс между потреблением энергии и ее расходованием, поэтому в подавляющем большинстве случаев ожирение развивается в результате неправильного образа жизни – высококалорийного питания и недостаточной двигательной активности. Избыточная масса тела образуется преимущественно за счет накопления жировых отложений в подкожной клетчатке и зоне висцерального жира, что приводит к целому ряду неблагоприятных метаболических последствий, определяемых как метаболический синдром. Основным патогенетическим фактором этого синдрома является инсулинорезистентность, которая способствует развитию коморбидных патологических состояний, включая неалкогольную жировую болезнь печени (НАЖБП) [1]. НАЖБП включает широкий спектр заболеваний печени, которые варьируются от простого накопления жира в печени и неалкогольного стеатогепатита до прогрессирующего фиброза, который может привести к циррозу и печеночной недостаточности и даже к летальному исходу [1]. У грызунов, которых содержат на диете с высоким содержанием жиров и углеводов, также наблюдаются патологические изменения в печени, напоминающие заболевание НАЖБП у людей [2]. В большинстве клинических и экспериментальных исследований показано, что НАЖБП, вызванная высококалорийной диетой, в наибольшей степени связана с мужским полом [3–5], однако имеются данные, которые это опровергают [6].

Поскольку эксперименты по изучению ожирения проводятся, как правило, на самцах грызунов, существует дефицит сведений о половом диморфизме, проявляющемся в последствиях диет-индуцированной патологии. В работе [7] показано, что самки крыс по сравнению с самцами более медленно и менее значительно набирают массу тела при избыточном питании, и у них регистрируется меньшее количество метаболических осложнений. Согласно данным O. D. Taraschenko с соавт. [8], при высококалорийной диете самцы более подвержены ожирению, чем самки, и у самцов, но не у самок, отмечается положительный эффект при коррекции данной патологии с использованием селективного антагониста α3β4 никотиновых рецепторов. Последнее подтверждает, что механизмы развития ожирения у самцов и самок крыс отличаются. В работе [9] оценивалось влияние высококалорийной диеты (ВКД) на развитие функциональных нарушений печени у крыс линии Спрег-Доули обоего пола. Результаты показывают, что самцы крыс более восприимчивы к ВКД-индуцированному воспалению печени и что механизм, лежащий в основе этого полового диморфизма, опосредован печеночной экспрессией фактора роста фибробластов печени FGF21. Авторы делают вывод о том, что развитие жировой дистрофии печени, вызванной ВКД, зависит от пола, и указывают на защитную роль эстрогенов против жирового поражения печени. Гепатопротекторная роль женских половых гормонов рассматривается и в других работах [10].

Вопрос о коррекции ожирения и его последствий у самцов и самок грызунов представляет особый интерес. Учитывая, что подавляющее большинство исследований по влиянию ожирения и его последствий, а также возможностей по его коррекции проведено на самцах, а исследования

на самках немногочисленны, возникла необходимость восполнить эти недостаточные сведения. Исходя из этого, представляло интерес охарактеризовать последствия диет-индуцированного ожирения и возможности немедикаментозной оздоровительной коррекции, включая состояние печени, у самок крыс линии Вистар, а также провести сопоставление с ранее проведенными аналогичными исследованиями на самцах крыс [11]. Поскольку основными причинами висцерального ожирения являются ВКД и сидячий образ жизни, то коррекция данной патологии предполагает в первую очередь переход на сбалансированное питание и подключение умеренных физических нагрузок, что соответствует рекомендациям ВОЗ, ЕС-ООН и проекта БЕЛМЕД [12].

Цель работы – изучить влияние диет-индуцированного ожирения и немедикаментозных вариантов его коррекции на морфологические характеристики печени и показатели печеночного метаболизма у самок крыс линии Вистар.

Материалы и методы исследования. Опыты проводили на половозрелых самках крыс линии Вистар. Животные были введены в эксперимент в возрасте 2 мес. Дизайн эксперимента показан на рис. 1. На I этапе крысы были случайным образом разделены на две основные группы, которые содержались либо на стандартной диете вивария («СтД» – контроль), либо получали высококалорийную диету («ВКД») в течение 8 недель. На II этапе животные были дополнительно разделены на подгруппы, включающие дополнительно физические нагрузки и переход от ВКД на СтД в течение следующих 8 недель. Контрольная группа была разделена на две подгруппы: «СтД» (контроль) и «СтД + бег». Группа «ВКД» была разделена на четыре подгруппы: «ВКД», «ВКД + бег», «ВКД/СтД», «ВКД/СтД + бег».

Животные находились в режиме 12/12-часового цикла день/ночь, при температуре 22 ± 2 °С и влажности воздуха 60–65 %. Все манипуляции были согласованы с комитетом по биоэтике Института физиологии НАН Беларуси (протокол № 1 от 02 февраля 2022 г.) и соответствовали требованиям биоэтики, утвержденным Европейской конвенцией о защите позвоночных животных. Животных выводили из эксперимента путем декапитации, используя тиопентал натрия. Критерием исключения животного из эксперимента служило его заболевание либо гибель.

ВКД состояла из дополнительного включения жиров животного происхождения (свиное сало) в стандартный рацион из расчета 45 % от суточной калорийности корма и замещения воды на 10%-й раствор фруктозы в свободном доступе (*ad libitum*) [13]. Умеренные физические нагрузки осуществляли натощак в виде бега на тредмиле 5 дней в неделю в течение 20 мин со скоростью 15 м/мин в утреннее время (с 9.00 до 12.00) [14]. Общая продолжительность тренировок составляла 8 недель.

Массу тела крыс еженедельно измеряли на весах SATURN (Китай). После выведения животных из эксперимента проводили забор крови и тканей, взвешивание висцеральной жировой ткани и печени на лабораторных весах (Scout Pro, Китай). Массовые коэффициенты (МК) висцерального жира и печени рассчитывали по формуле МК = (масса органа/масса тела) · 100 %. Для приготовления гомогенатов навески печени измельчали на льду ручным гомогенизатором IKA T 10 basic (IKA-WERKE, Германия) с использованием 0,2-молярного Na-фосфатного буфера (pH = 7,4).

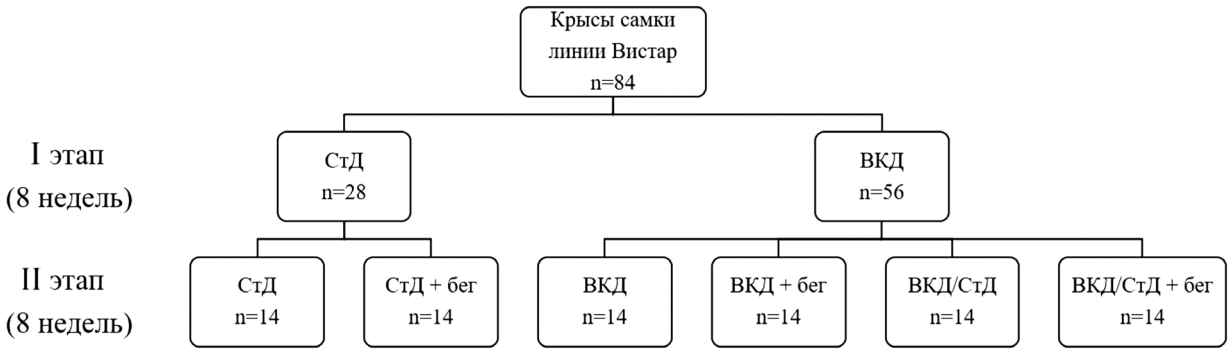


Рис. 1. Дизайн эксперимента

Fig. 1. Experiment design

Общепринятые клинико-лабораторные биохимические методы исследования осуществляли на биохимическом автоматическом анализаторе BS-200 (Mindray, Китай) с программным обеспечением BS-330, используя коммерческие наборы фирмы «Диасенс» (Республика Беларусь), согласно инструкциям производителя, с обязательным контролем качества (контрольные сыворотки производства Randox, Великобритания). Содержание малонового диальдегида (МДА) в гомогенатах печени оценивали по методу [15].

Для морфологического анализа фрагменты правой доли печени подвергали быстрой заморозке в криостате. Серийные срезы толщиной 7 мкм изготавливали на микротоме-криостате HM 525 (Microm, Германия) и окрашивали гематоксилин-эозином по общепринятой методике [16]. Для визуализации липидов (триглицеридов) использовали окраску суданом III [16]. Исследование микропрепаратов, морфометрию и изготовление микрофотографий проводили с помощью светового микроскопа Альтами LUM-1, оснащенного цифровой фотокамерой.

Для статистического анализа использовали программу Statistica 10.0. Характер распределения показателей определяли по критерию Шапиро–Уилка. Учитывая преимущественно ненормальное распределение значений, применяли непараметрические методы статистики. Результаты представлены в виде медианы, 25-го и 75-го процентилей (Me [25; 75]). Статистическую значимость отличий рассчитывали по *U*-критерию Манна–Уитни, достоверным считали уровень значимости $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение. В ходе эксперимента наблюдалась возрастная динамика нарастания массы тела у самок крыс всех групп, при этом на завершающей стадии исследования достоверно значимые отличия по массе тела у животных различных групп отсутствовали.

Масса висцеральной жировой ткани у животных в группах «СтД» и «СтД + бег» составила 7,57 [5,82; 10,00] и 7,62 [4,36; 9,17] г, а в группах «ВКД» и «ВКД + бег» – 19,30 [9,38; 23,47] и 19,80 [13,49; 23,64] г, что свидетельствует о ее достоверном нарастании в 2,5 и 2,6 раза соответственно по сравнению с таковой в группах сбалансированного питания. Массовый коэффициент висцеральной жировой ткани был существенно повышен также в группах «ВКД» и «ВКД + бег» (в 2,3 и 2,6 раза по сравнению с контролем), что указывает на развитие висцерального диет-индуцированного ожирения у самок крыс. У животных из групп коррекции ожирения «ВКД/СтД» и «ВКД/СтД + бег» вышеуказанные показатели были равнозначны контрольным значениям. Показатели массы печени и ее массовый коэффициент не претерпевали существенных изменений у крыс экспериментальных групп.

В таблице представлены данные биохимического анализа сыворотки крови, отражающие состояние печеночного метаболизма у самок крыс линии Вистар. Все исследуемые биохимические показатели у крыс в группах «СтД» и «СтД + бег» были практически идентичными.

Состояние липидного обмена оценивали по содержанию ОХ и ТГ в сыворотке крови. Содержание ОХ оставалось в пределах нормы во всех экспериментальных группах, а уровень ТГ достоверно повышался в группе «ВКД + бег» (в 1,5 раза по сравнению с группой «СтД + бег»), что характеризует нарастание липолиза под влиянием физической нагрузки, но только у животных с висцеральным ожирением. Избыточное питание существенно влияло на состояние печеночного метаболизма у самок крыс. Установлено значимое снижение уровня мочевины в сыворотке крови при ВКД и при сочетании ВКД с бегом – в 1,6–1,7 раза по сравнению с контролем, что характерно для печеночной недостаточности, гепатита либо цирроза печени [17]. На фоне ВКД, независимо от физических нагрузок, зарегистрировано достоверное повышение уровня ОБ, снижение активности АЛТ и резкое повышение активности ЩФ, что в совокупности демонстрирует поражение печени [17, 18]. Активность фермента АСТ в сыворотке крови оставалась стабильной при всех условиях эксперимента. Отмечено достоверное повышение содержания глюкозы в крови самок крыс в группах «ВКД», «ВКД/СтД» и «ВКД + бег» по сравнению с контролем. Повышенный уровень глюкозы при диет-индуцированном ожирении независимо от физических нагрузок («ВКД» и «ВКД + бег») и даже при переходе на сбалансированную диету («ВКД/СтД») указывает на развивающуюся тенденцию к инсулинорезистентности [17]. Нормализация функции инсулярного аппарата регистрировалась только при сочетанной коррекции ожирения («ВКД/СтД + бег»). Следует отметить, что большинство вышеперечисленных биохимических сдвигов (кроме повышения

Биохимические показатели сыворотки крови у самок крыс всех экспериментальных групп

Biochemical parameters of blood serum of female rats of all experimental groups

Показатель	Группы					
	без физических нагрузок			с физическими нагрузками		
	«СтД»	«ВКД»	«ВКД/СтД»	«СтД + бег»	«ВКД + бег»	«ВКД/СтД + бег»
ОХ, ммоль/л	1,62 [1,47; 1,77]	1,67 [1,36; 1,90]	1,54 [1,35; 1,88]	1,56 [1,38; 1,66]	1,50 [1,45; 1,62]	1,51 [1,37; 1,65]
ТГ, ммоль/л	1,37 [0,84; 1,80]	0,96 [0,66; 2,47]	1,15 [0,75; 1,35]	0,94 [0,81; 1,05]	1,42 [1,12; 1,65]$^{\#}$	0,89 [0,66; 1,14]
Глюкоза, ммоль/л	6,88 [6,07; 7,21]	7,80 [7,24; 8,03]*	7,85 [7,17; 8,09]$^{*\#}$	6,88 [6,21; 7,33]	8,02 [7,32; 8,50]$^{*\#}$	7,51 [7,14; 7,83]
Мочевина, ммоль/л	6,35 [5,83; 6,73]	3,66 [3,37; 4,21]$^{*\#}$	6,62 [6,34; 7,60]$^{\bullet\&}$	6,13 [5,96; 6,59]	3,95 [3,12; 4,37]$^{*\#}$	6,94 [6,14; 7,22]$^{\bullet\&}$
ОБ, мкмоль/л	2,30 [2,10; 2,90]	3,60 [2,40; 4,20]$^{*\#}$	2,40 [1,90; 2,60]$^{\bullet\&}$	2,40 [2,10; 2,70]	3,50 [2,60; 4,50]$^{*\#}$	2,40 [2,10; 2,45]$^{\&}$
АСТ, Ед/л	162,00 [144,00; 185,00]	159,00 [129,00; 164,00]	147,00 [123,00; 167,00]	158,00 [151,00; 188,00]	154,50 [138,00; 170,00]	161,50 [140,00; 167,00]
АЛТ, Ед/л	54,00 [43,00; 67,00]	36,00 [33,00; 41,00]$^{*\#}$	48,00 [46,00; 64,00]$^{\bullet\&}$	60,00 [48,00; 67,00]	39,50 [34,00; 47,00]$^{*\#}$	52,00 [46,00; 56,00]$^{\bullet\&}$
ЩФ, Ед/л	276,50 [219,00; 392,00]	496,00 [365,00; 661,00]$^{*\#}$	310,00 [232,00; 337,00]$^{\bullet\&}$	300,00 [243,00; 346,00]	570,50 [426,00; 667,00]$^{*\#}$	342,00 [214,50; 411,00]$^{\bullet\&}$

П р и м е ч а н и е. Здесь и на рис. 2: значимость отличий ($p < 0,05$) от групп «СтД» (*), «ВКД» (●), «СтД + бег» (#), «ВКД + бег» (&) и между группами «ВКД/СтД» и «ВКД/СтД + бег» (^). ОХ – общий холестерин, ТГ – триглицериды, ОБ – общий билирубин, АСТ – аспартатаминотрансфераза, АЛТ – аланинаминотрансфераза, ЩФ – щелочная фосфатаза.

уровня глюкозы), развивающихся на фоне диеты с высоким содержанием жиров и углеводов, возвращалось к норме при переходе от ВКД к сбалансированной диете независимо от физических нагрузок (см. таблицу).

Далее были изучены биохимические показатели в гомогенатах печени крыс (в расчете на 1 г ткани). Содержание ОБ, глюкозы и значения активности лактатдегидрогеназы были относительно стабильными как при диет-индуцированном висцеральном ожирении, так и при немедикаментозных вариантах его коррекции по сравнению с данными контроля. Концентрация ОБ имела тенденцию к снижению на фоне ВКД и достигала значимого снижения в группе крыс «ВКД + бег», что, по-видимому, связано с жировым гепатозом и гибелью печеночных клеток, продуцирующих билирубин. Следует отметить, что у самок крыс в группах «ВКД» и «ВКД + бег» регистрировалось повышенное поступление билирубина в кровь (см. таблицу). Полученные данные подтверждают гепатотоксическое влияние диет-индуцированного ожирения на состояние печеночного метаболизма.

Определение МДА в печеночной ткани выявило тенденцию к повышению этого показателя у крыс группы «ВКД» по сравнению с таковым в группе контроля и в группе «СтД + бег», где содержание МДА было минимальным. Уровень МДА в группе «ВКД + бег» достоверно повышался относительно его значений в группе «СтД» (в 2,7 раза) и в группе «СтД + бег» (почти в 3,5 раза), что свидетельствует о резком нарастании перекисного окисления липидов при высококалорийной диете, особенно при подключении бега на тредмиле. При переходе к стандартной диете, независимо от физических нагрузок, уровень показателя возвращался к норме (рис. 2).

С целью уточнения морфофункционального состояния печени изучена гистоструктура органа (рис. 3–5). У самок крыс, находившихся на стандартном рационе питания, общая архитектоника органа являлась сохранной (рис. 3, *a*). Гепатоциты полигональной формы с хорошо выраженной мембраной, ядра средние и крупные, со светлой кариоплазмой. При окраске гематоксилин-эозином цитоплазма гепатоцитов имела однородную окраску. На отдельных участках иногда встречались мелкие липидные включения (рис. 3, *b*). У крыс группы «СтД + бег» общая архитектоника органа в целом не нарушена, а гистоструктура практически не отличалась от таковой в группе «СтД» (рис. 3, *c*). Однако при окраске гематоксилин-эозином цитоплазма гепатоцитов

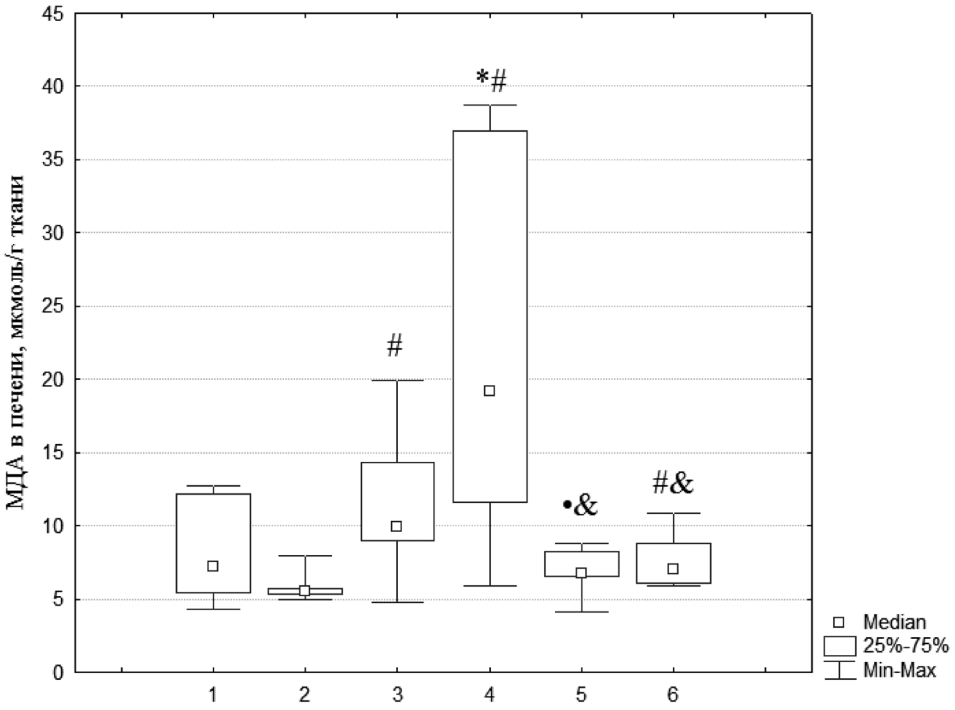


Рис. 2. Уровень МДА в печеночной ткани самок крыс всех экспериментальных групп: *1* – «СтД», *2* – «СтД + бег», *3* – «ВКД», *4* – «ВКД + бег», *5* – «ВКД/СтД», *6* – «ВКД/СтД + бег»

Fig. 2. MDA level in the liver tissue of female rats of all experimental groups: *1* – "StD", *2* – "StD + running", *3* – "HCD", *4* – "HCD + running", *5* – "HCD/StD", *6* – "HCD/StD + running"

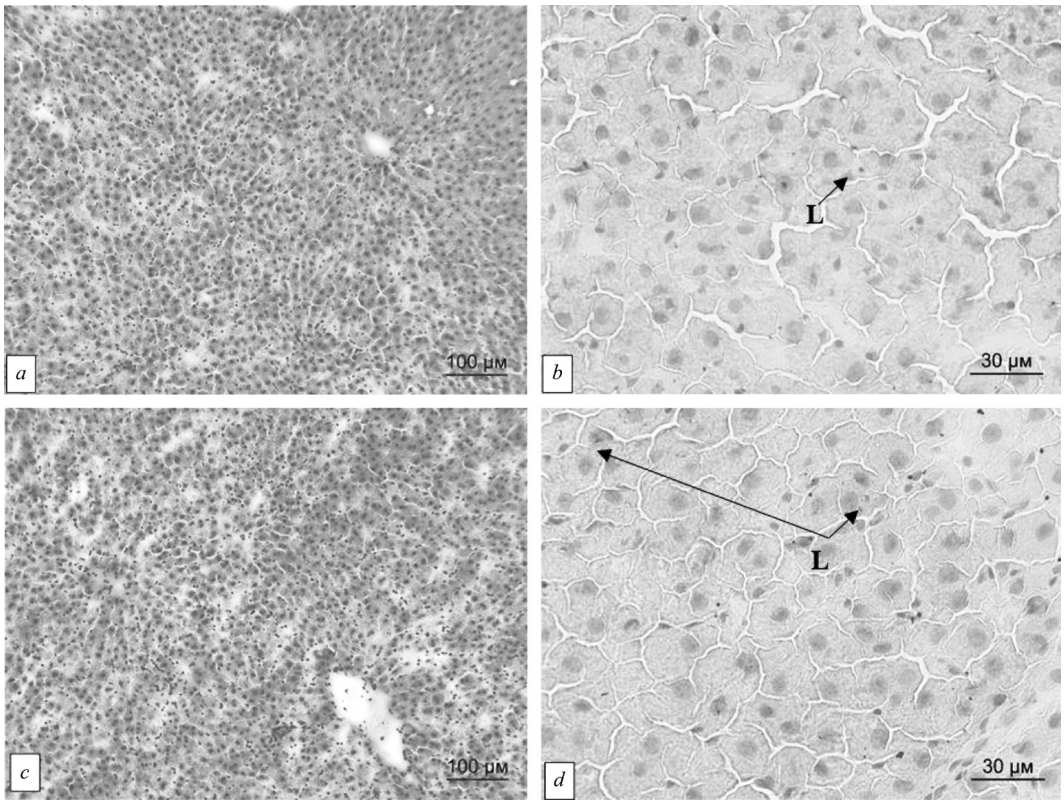


Рис. 3. Гистоструктура печени крыс групп «СтД» (*a*, *b*) и «СтД + бег» (*c*, *d*). L – липидные включения. Окраска: *a*, *c* – гематоксилин-эозином (×100); *b*, *d* – суданом III (×400)

Fig. 3. Histostructure of the rat liver from "StD" (*a*, *b*) and "StD + running" (*c*, *d*) groups. L – lipid inclusions Color: *a*, *c* – hematoxylin-eosin (×100); *b*, *d* – sudan III (×400)

имела зернистую окраску, выявлялись единичные вакуоли. Некротические и некробиотические изменения гепатоцитов обнаруживались редко, по периферии долек. На отдельных участках в гепатоцитах встречались также мелкие липидные включения (рис. 3, *d*).

У самок крыс группы «ВКД» обнаружено значительное нарушение гистоархитектоники печени (рис. 4, *a*). Дольчатое строение паренхимы органа не визуализировалось. Отмечалось нарушение радиального расположения синусоидов, которые местами были расширены. Гепатоциты с ядрами преимущественно мелкого размера, часто без четких границ. Выявлялась выраженная жировая дистрофия органа (рис. 4, *b*). Липидные капли мелкого и среднего размера обнаруживались во всех гепатоцитах. Часто липиды занимали практически всю клетку, оттесняя ядро и органеллы к периферии – образовывались так называемые перстневидные клетки. После гибели гепатоцитов

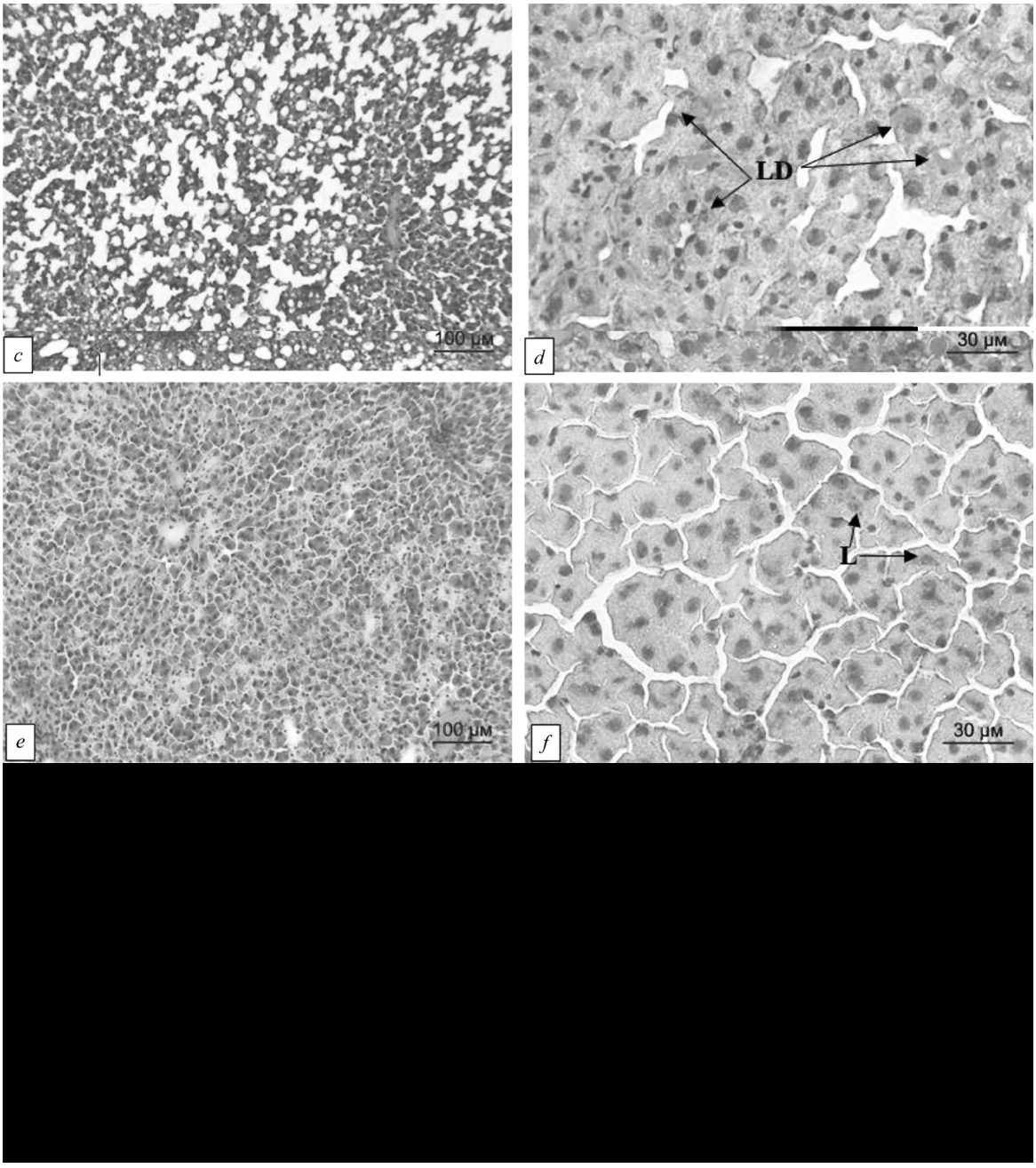


Рис. 4. Гистоструктура печени крыс групп «ВКД» (*a*, *b*) и «ВКД + бег» (*c*, *d*, *e*, *f*). L – липидные включения, LD – липидные капли. Окраска: *a*, *c*, *e* – гематоксилин-эозином (×100); *b*, *d*, *f* – суданом III (×400)

Fig. 4. Histostructure of the rat liver from "HCD" (*a*, *b*) and "HCD + running" (*c*, *d*, *e*, *f*) groups. L – lipid inclusions, LD – lipid droplets. Color: *a*, *c*, *e* – hematoxylin-eosin (×100); *b*, *d*, *f* – sudan III (×400)

жировые капли сливались, что приводило к образованию жировых кист, вокруг которых, как правило, развивалась воспалительная реакция.

В группе «ВКД + бег» выявлены животные как со значительным нарушением структуры печени и выраженной жировой дистрофией (рис. 4, *c*, *d*), так и с сохраненной гистоархитектоникой данного органа (рис. 4, *e*, *f*).

Через 8 недель после перехода с 8-недельной ВКД на СтД («ВКД/СтД») общая архитектоника печени самок крыс была частично изменена (рис. 5, *a*). Синусоиды расширены, на большинстве участков встречались гепатоциты полигональной формы с хорошо выраженной, не нарушенной мембраной и ядрами разных размеров. При окраске гематоксилин-эозином цитоплазма большинства гепатоцитов имела однородную окраску, вакуолей не наблюдалось. Преимущественно по периферии долек обнаруживались немногочисленные некротические и некробиотические изменения гепатоцитов. На отдельных участках имелись мелкие липидные включения (рис. 5, *b*).

У животных группы «ВКД/СтД + бег» в целом наблюдали восстановленную гистологическую картину печени (рис. 5, *c*). В клетках паренхимы печени часто встречались мелкие липидные включения (рис. 5, *d*). Отличительной особенностью являлось наличие двуядерных гепатоцитов, что указывает на активную регенерацию органа.

Оценивая тяжесть диет-индуцированных влияний на состояние печени у самок крыс, представляло интерес сравнить эти данные с ранее изученными показателями у самцов в аналогичных условиях эксперимента [11]. Следует отметить, что у самцов при ВКД наблюдалась гепатомегалия, а у самок она отсутствовала. У самцов зарегистрировано нарастание в сыворотке крови уровней ОХ и ТГ, а у самок – только последнего показателя в группе «ВКД + бег». У самцов выявлено достоверное снижение активности АЛТ и АСТ, а у самок – только АЛТ. Сдвиги со стороны

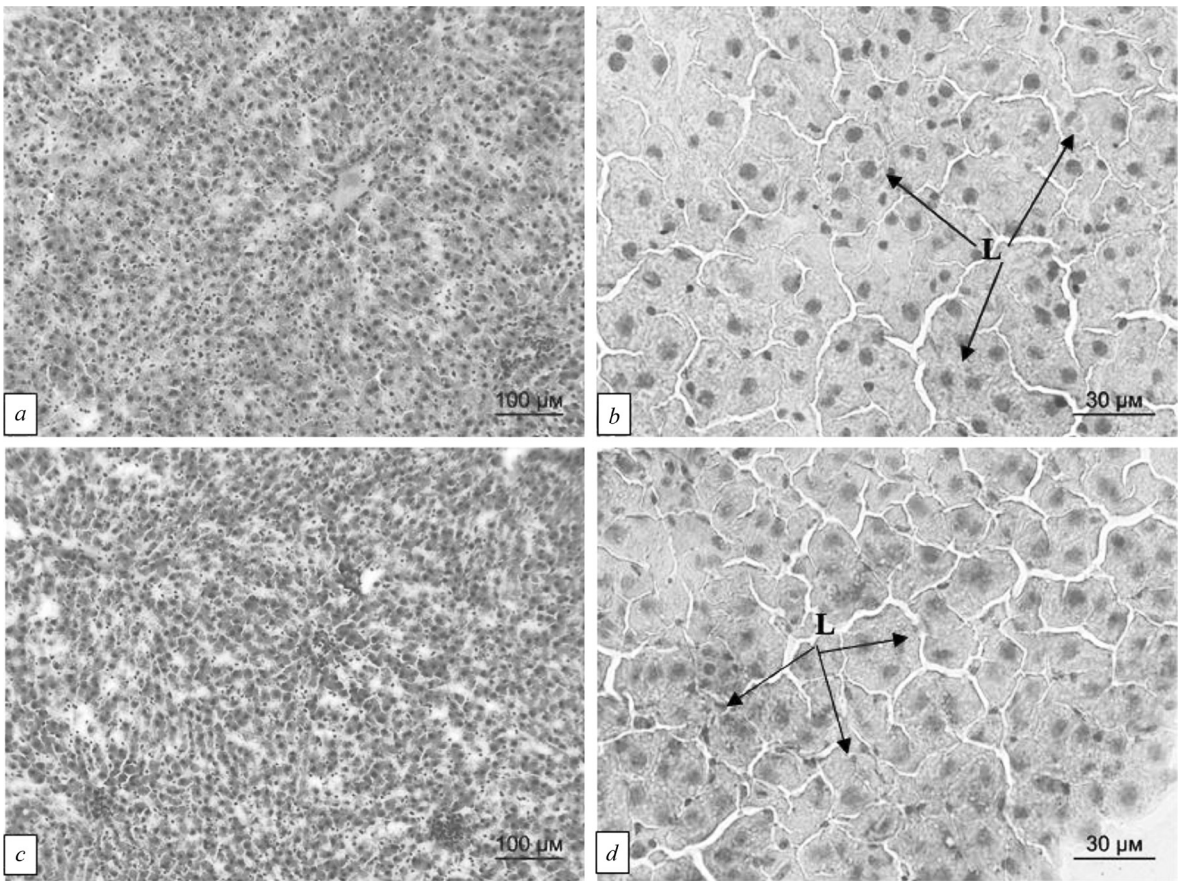


Рис. 5. Гистоструктура печени крыс групп «ВКД/СтД» (*a*, *b*) и «ВКД/СтД + бег» (*c*, *d*). L – липидные включения. Окраска: *a*, *c* – гематоксилин-эозин (×100); *b*, *d* – судан III (×400)

Fig. 5. Histostructure of the rat liver from “HCD/StD” (*a*, *b*) and “HCD/StD + running” (*c*, *d*) groups. L – lipid inclusions. Color: *a*, *c* – hematoxylin-eosin (×100); *b*, *d* – sudan III (×400)

мочевины, ОБ и ЩФ были сопоставимыми у животных обоего пола. Переход на стандартный рацион питания в сочетании с физическими нагрузками и без таковых приводил к нивелированию метаболических сдвигов на фоне ВКД вне зависимости от пола.

Сравнительный анализ полученных данных демонстрирует, что неблагоприятные изменения метаболических показателей в сыворотке крови в большей степени выражены у самцов, чем у самок, хотя степень висцерального ожирения при избыточном питании была сопоставимой у крыс обоего пола. Необходимо подчеркнуть, что физические нагрузки на фоне висцерального ожирения зачастую отягчали сдвиги метаболизма у животных обоего пола.

У самцов в группах «ВКД» и «ВКД + бег», а также у самок в группе «ВКД» выявлено нарушение гистоструктуры печени с выраженной жировой дистрофией органа. Следует подчеркнуть, что только у самок обнаружены индивидуальные особенности в реакции на подключение бега при высококалорийном питании. Среди самок в группе «ВКД + бег» были выявлены животные как с нарушенной, так и с сохраненной гистоархитектоникой печени. Нормализация гистоструктуры печени наблюдалась у животных обоего пола в группе «ВКД/СтД», а признаки восстановления структуры с сопутствующими признаками регенерации органа – в группах «ВКД/СтД + бег», также вне зависимости от пола. Таким образом, жировая дистрофия печени на фоне ВКД при подключении физических нагрузок в большей степени выражена у самцов, чем у самок. Полученные нами результаты согласуются с данными авторов [9, 10] и подтверждают, что при однотипном диет-индуцированном висцеральном ожирении у самок крыс развивается менее выраженное поражение печени, чем у самцов.

Выводы

Содержание самок крыс линии Вистар в течение 16 недель на высококалорийной диете приводит к формированию висцерального ожирения, жировой дистрофии печени, образованию жировых кист и частичной гибели гепатоцитов, что сопровождается рядом нарушений печеночного метаболизма и нарастанием процессов перекисного окисления липидов.

Коррекция диет-индуцированного ожирения путем перехода на стандартную диету вызывает снижение массы и массового коэффициента висцеральной жировой ткани и частичное восстановление архитектоники печени. При этом регистрируется нормализация биохимических показателей сыворотки крови, нарушенных при висцеральном ожирении (триглицериды, общий билирубин, активность ферментативных процессов – АЛТ и ЩФ) и уровня МДА в ткани печени.

Подключение физических нагрузок на фоне продолжающейся высококалорийной диеты приводит к неоднозначным изменениям гистоархитектоники печени, включая как выраженный стеатогепатоз, так и частичное сохранение структуры органа. При этом в группе «ВКД + бег» метаболические нарушения носят более выраженный характер, чем в группе «ВКД».

Переход от высококалорийного питания к стандартной диете в сочетании с физическими нагрузками способствует более полному восстановлению гистоструктуры печени с признаками регенерации органа. При этом масс-метрические и метаболические показатели остаются на уровне нормы, достигнутой при переходе к сбалансированному питанию.

Таким образом, оптимальная коррекция висцерального ожирения, жировой дистрофии печени и ее метаболизма невозможна без нормализации рациона питания у самок крыс линии Вистар. Дополнительный регенерирующий эффект в отношении гистоструктуры печени достигается при сочетанном варианте коррекции – при переходе к сбалансированному питанию и умеренным физическим нагрузкам.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список использованных источников

1. Sarwar, R. Obesity and nonalcoholic fatty liver disease: current perspectives / R. Sarwar, N. Pierce, S. Koppe // Diabetes Metab. Syndr. Obes. – 2018. – Vol. 11. – P. 533–542. https://doi.org/10.2147/DMSO.S146339

2. Histologic and metabolic derangement in high-fat, high-fructose, and combination diet animal models / J. S. Lee [et al.] // Sci. World J. – 2015. – Art. 306326. https://doi.org/10.1155/2015/306326

3. Ganz, M. High fat diet feeding results in gender specific steatohepatitis and inflammasome activation / M. Ganz, T. Csak, G. Szabo // World J. Gastroenterol. – 2014. – Vol. 20, N 26. – P. 8525–8534. https://doi.org/10.3748/wjg.v20.i26.8525

4. Distinct metabolic effects following short-term exposure of different high-fat diets in male and female mice / S. P. Senthil Kumar [et al.] // Endocr. J. – 2014. – Vol. 61, N 5. – P. 457–470. https://doi.org/10.1507/endocrj.EJ13-0455

5. Gender and strain-specific differences in the development of steatosis in rats / S. Stöppeler [et al.] // Lab. Anim. – 2013. – Vol. 47, N 1. – P. 43–52. https://doi.org/10.1177/0023677212473717

6. Metabolic differences between male and female adolescents with non-alcoholic fatty liver disease, as detected by ultrasound / M. T. Fernandes [et al.] // Acta Paediatr. – 2010. – Vol. 99, N 8. – P. 1218–1223. 10.1111/j.1651-2227.2010.01774.x

7. Sex and species differences in the development of diet-induced obesity and metabolic disturbances in rodents / I. Maric [et al.] // Front Nutr. – 2022. – Vol. 9. – Art. 828522. https://doi.org/10.3389/fnut.2022.828522

8. Taraschenko, O. D. Sex differences in high fat-induced obesity in rats: Effects of 18-methoxycoronaridine / O. D. Taraschenko, I. M. Maisonneuve, S. D. Glick // Physiol. Behav. – 2011. – Vol. 103, N 3–4. – P. 308–314. https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2011.02.011

9. Hepatic FGF21 mediates sex differences in high-fat high-fructose diet-induced fatty liver / N. Chukijrungroat [et al.] // Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab. – 2017. – Vol. 313, N 2. – P. E203–E212. https://doi.org/10.1152/ajpendo.00076.2017

10. Ovarian hormones and obesity / B. Leeners [et al.] // Hum. Reprod. Update. – 2017. – Vol. 23, N 3. – P. 300–321. https://doi.org/10.1093/humupd/dmw045

11. Морфофункциональное состояние печени крыс-самцов линии Вистар при диет-индуцированном ожирении и его коррекции / А. А. Басалай [и др.] // Вес. Нац. акад. навук Беларусі. Сер. мед. навук. – 2022. – Т. 19, № 3. – С. 308–320.

12. Инструкция о порядке организации оказания медицинской помощи в отношении профилактики и ведения избыточной массы тела и ожирения [Электронный ресурс]. – Режим доступа: https://belcmt.by/docs/BELMED/3_Instruction_Overweight and obesity.pdf. – Дата доступа: 01.02.2023.

13. Experimental models of metabolic syndrome in rats / S. Gancheva [et al.] // Scripta Scientifica Medica. – 2015. – Vol. 47, N 2. – P. 14–21. http://dx.doi.org/10.14748/ssm.v47i2.1145

14. Impacts of exercise intervention on various diseases in rats / R. Wang [et al.] // J. Sport Health Sci. – 2020. – Vol. 9, N 3. – P. 211–227. https://doi.org/10.1016/j.jshs.2019.09.008

15. Стальная, И. Д. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты / И. Д. Стальная, Т. Г. Гаришвили // Современные методы в биохимии / под ред. В. Н. Ореховича. – М., 1977. – С. 66–68.

16. Коржевский, Д. Э. Основы гистологической техники / Д. Э. Коржевский, А. В. Гиляров. – СПб.: Спецлит, 2010. – 95 с.

17. Краткий справочник лабораторных исследований / У. Г. Борейко [и др.]; под ред. В. В. Шило, О. В. Небыльцовой. – Минск: Смэлток, 2016. – 630 с.

18. Гавриленко, Д. И. Особенности интерпретации некоторых печеночных тестов / Д. И. Гавриленко, Т. Е. Гавриленко. – Гомель: б. и., 2017. – 27 с.

References

1. Sarwar R., Pierce N., Koppe S. Obesity and nonalcoholic fatty liver disease: current perspectives. *Diabetes, Metabolic Syndrome and Obesity: Targets and Therapy*, 2018, vol. 11, pp. 533–542. https://doi.org/10.2147/DMSO.S146339

2. Lee J. S., Kim E. K., Jeon H. J., Nam H. H., Saeed W. K. Histologic and metabolic derangement in high-fat, high-fructose, and combination diet animal models. *Scientific World Journal*, 2015, art. 306326. https://doi.org/10.1155/2015/306326

3. Ganz M., Csak T., Szabo G. High fat diet feeding results in gender specific steatohepatitis and inflammasome activation. *World Journal of Gastroenterology*, 2014, vol. 20, no. 26, pp. 8525–8534. https://doi.org/10.3748/wjg.v20.i26.8525

4. Kumar S. S., Shen M., Spicer E. G., Goudjo-Ako A. J., Stumph J. D., Zhang J., Haifei S. Distinct metabolic effects following short-term exposure of different high-fat diets in male and female mice. *Endocrine Journal*, 2014, vol. 61, no. 5, pp. 457–470. https://doi.org/10.1507/endocrj.EJ13-0455

5. Stöppeler S., Palmes D., Fehr M., Hölzen J. P., Zibert A., Siaj R., Schmidt H. H.-J., Spiegel H.-U. Gender and strain-specific differences in the development of steatosis in rats. *Laboratory Animals*, 2013, vol. 47, no. 1, pp. 43–52. https://doi.org/10.1177/0023677212473717

6. Fernandes M. T., Ferraro A. A., Azevedo R. A., Fagundes Neto U. Metabolic differences between male and female adolescents with non-alcoholic fatty liver disease, as detected by ultrasound. *Acta Paediatrica*, 2010, vol. 99, no. 8, pp. 1218–1223. https://doi.org/10.1111/j.1651-2227.2010.01774.x

7. Maric I., Krieger J.-P., Velden P., Börchers S., Asker M., Vujicic M., Asterholm I. M., Skibicka K. P. Sex and species differences in the development of diet-induced obesity and metabolic disturbances in rodents. *Frontiers in Nutrition*, 2022, vol. 9, art. 828522. https://doi.org/10.3389/fnut.2022.828522

8. Taraschenko O. D., Maisonneuve I. M., Glick S. D. Sex differences in high fat-induced obesity in rats: Effects of 18-methoxycoronaridine. *Physiology Behavior*, 2011, vol. 103, no. 3–4, pp. 308–314. https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2011.02.011

9. Chukijrungroat N., Khamphaya T., Weerachayaphorn J., Songserm T., Saengsirisuwan V. Hepatic FGF21 mediates sex differences in high-fat high-fructose diet-induced fatty liver. *American Journal of Physiology. Endocrinology and Metabolism*, 2017, vol. 313, no. 2, pp. E203–E212. https://doi.org/10.1152/ajpendo.00076.2017

10. Leeners B., Geary N., Tobler P. N., Asarian L. Ovarian hormones and obesity. *Human Reproduction Update*, 2017, vol. 23, no. 3, pp. 300–321. https://doi.org/10.1093/humupd/dmw045

11. Basalai A. A., Kuznetsova T. E., Mityukova T. A., Polulyakh O. E., Chudilovskaya E. N., Kostyuchenko N. S., Shcherbakov Ya. V., Khrustaleva T. A., Gubkin S. V. Morphofunctional state of the liver of male Wistar rats during diet-induced obesity and its correction. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya medytsynskikh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2022, vol. 19, no. 3, pp. 308–320 (in Russian).

12. *Instruction on the procedure for organizing the provision of medical care in relation to the prevention and management of overweight and obesity.* Available at: https://belcmt.by/docs/BELMED/3_Instruction_Overweight and obesity.pdf (accessed 01.02.2023) (in Russian).

13. Gancheva S., Zhelyazkova-Savova M., Galunska B., Chervenkov T. Experimental models of metabolic syndrome in rats. *Scripta Scientifica Medica*, 2015, vol. 47, no. 2, pp. 14–21. http://dx.doi.org/10.14748/ssm.v47i2.1145

14. Wang R., Tian H., Guo D., Tian Q., Yao T., Kong X. Impacts of exercise intervention on various diseases in rats. *Journal of Sport and Health Science*, 2020, vol. 9, no. 3, pp. 211–227. https://doi.org/10.1016/j.jshs.2019.09.008

15. Stal'naya I. D., Garishvili T. G. Method for the determination of malondialdehyde using thiobarbituric acid. *Sovremennye metody v biokhimii* [*Modern methods in biochemistry*]. Moscow, 1977, pp. 66–68 (in Russian).

16. Korzhevskii D. E., Gilyarov A. V. *Fundamentals of histological technique*. St. Petersburg, Spetslit Publ., 2010. 95 p. (in Russian).

17. Boreiko U. G., Glazkova S. E., Efimova N. N., Zhdanova O. V., Kovaleva O. V., Kugaev O. L. [et al.]. *Concise reference book of laboratory research*. Minsk, Smeltok Publ., 2016. 630 p. (in Russian).

18. Gavrilenko D. I., Gavrilenko T. E. *Peculiarities of interpretation of some liver tests*. Gomel, 2017. 27 p. (in Russian).

Информация об авторах

Басалай Анастасия Александровна – науч. сотрудник. Институт физиологии НАН Беларуси (ул. Академическая, 28, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: anastasiya.basalay@gmail.com

Митюкова Татьяна Алексеевна – канд. биол. наук, гл. науч. сотрудник. Институт физиологии НАН Беларуси (ул. Академическая, 28, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: mityukovat@gmail.com

Кузнецова Татьяна Евгеньевна – канд. биол. наук, вед. науч. сотрудник. Институт физиологии НАН Беларуси (ул. Академическая, 28, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: tania_k@mail.ru

Чудиловская Екатерина Николаевна – науч. сотрудник. Институт физиологии НАН Беларуси (ул. Академическая, 28, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: e.chudilovskaya@gmail.com

Полулях Ольга Евгеньевна – науч. сотрудник. Институт физиологии НАН Беларуси (ул. Академическая, 28, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: oilipol@yandex.ru

Костюченко Никита Сергеевич – мл. науч. сотрудник. Институт физиологии НАН Беларуси (ул. Академическая, 28, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: nkostuchenko888@gmail.com

Щербаков Яков Валентинович – мл. науч. сотрудник. Институт физиологии НАН Беларуси (ул. Академическая, 28, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: yakov.shcherbakov.98@gmail.com

Губкин Сергей Владимирович – член-корреспондент, д-р мед. наук, профессор. Институт физиологии НАН Беларуси (ул. Академическая, 28, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: goubkin@yandex.ru

Information about the authors

Anastasia A. Basalai – Researcher. Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Belarus (28, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: anastasiya.basalay@gmail.com

Tatyana A. Mityukova – Ph. D. (Biol.). Chief Researcher. Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Belarus (28, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: mityukovat@gmail.com

Tatyana E. Kuznetsova – Ph. D. (Biol.). Leading Researcher. Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Belarus (28, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: tania_k@mail.ru

Katerina N. Chudilovskaya – Researcher. Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Belarus (28, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: e.chudilovskaya@gmail.com

Olga Y. Poluliakh – Researcher. Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Belarus (28, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: oilipol@yandex.ru

Mikita S. Kastsiuchenka – Junior Researcher. Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Belarus (28, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: nkostuchenko888@gmail.com

Yakov V. Shcherbakov – Junior Researcher. Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Belarus (28, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: yakov.shcherbakov.98@gmail.com

Siarhei V. Hubkin – Corresponding Member, D. Sc. (Med.), Professor. Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Belarus (28, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: goubkin@yandex.ru

ISSN 1814-6023 (Print)
ISSN 2524-2350 (Online)
УДК 616.643-007.271
https://doi.org/10.29235/1814-6023-2024-21-3-194-202

Поступила в редакцию 22.01.2024
Received 22.01.2024

А. В. Строцкий[1], К. О. Образков[1], Д. Р. Ясюкайть[2]

[1]Белорусский государственный медицинский университет, Минск, Республика Беларусь
[2]4-я городская клиническая больница имени Н. Е. Савченко, Минск, Республика Беларусь

НЕИНВАЗИВНАЯ ОЦЕНКА ДИНАМИКИ ИЗМЕНЕНИЯ СОСУДИСТОГО РУСЛА В БУККАЛЬНОМ АУТОГРАФТЕ ПРИ ЛЕЧЕНИИ ПРОТЯЖЕННЫХ СТРИКТУР УРЕТРЫ

Аннотация. Лечение стриктур мочеиспускательного канала у мужчин остается одной из наиболее актуальных и сложных проблем современной урологии. Наличие протяженных стриктур мочеиспускательного канала, осложненных такими факторами, как выраженная деформация мочеиспускательного канала, инфекция, свищи, предыдущие неудачные вмешательства на мочеиспускательном канале, полная облитерация мочеиспускательного канала, требует применения двух- или многоэтапных операций. В свете последних достижений оценка методов адаптации пересаженной слизистой оболочки щеки и микроциркуляции в аутотрансплантате в настоящее время очень актуальна. Нами предпринята попытка оценить роль дерматоскопии в объективной оценке микрососудистой сети трансплантата слизистой оболочки щеки после двухэтапной заместительной уретропластики.

Анализ микрофотографий трансплантата, сделанных в разные периоды времени после уретропластики, позволяет определить основные этапы эволюции микроциркуляторного русла.

Принимая во внимание утверждение о том, что эволюция микроциркуляторного русла – это эволюция его трансплантата, считаем, что правильным направлением исследований является изучение методов стимуляции микроангиогенеза.

Ключевые слова: стриктура уретры, графт, буккальная слизистая, микрососудистое русло, дерматоскопия

Для цитирования: Строцкий, А. В. Неинвазивная оценка динамики изменения сосудистого русла в буккальном аутографте при лечении протяженных стриктур уретры / А. В. Строцкий, К. О. Образков, Д. Р. Ясюкайть // Вес. Нац. акад. навук Беларусі. Сер. мед. навук. – 2024. – Т. 21, № 3. – С. 194–202. https://doi.org/10.29235/1814-6023-2024-21-3-194-202

Alexandr V. Strotsky[1], Kirill O. Obrazkov[1], Dmitriy R. Yasiukaits[2]

[1]Belarusian State Medical University, Minsk, Republic of Belarus
[2]4th City Clinical Hospital named after N. E. Savchenko, Minsk, Republic of Belarus

NON-INVASIVE ASSESSMENT OF THE DYNAMICS OF CHANGE IN THE VASCULAR BED IN THE BUCCAL AUTOGRAPH DURING TREATMENT OF EXTENDED URETHRAL STRICTURES

Abstract. The male urethral stricture disease treatment despite all successful achievements and treatment options still remains one of the most actual and complex problems of modern urology. The presence of prolonged urethral strictures complicated with such factors as expressed scared deformation, infection, fistulae, previous unsuccessful urethral interventions, total urethral obliteration require the use of two- or multistage operations. In the light of recent times, the improvement methods dedicated to buccal mucosa graft adaptation assessment and autotransplant microvascularity evaluation are very relevant nowadays. In this study we made an attempt to estimate the dermatoscopy role in objective assessment of buccal mucosa graft microvascular network after two staged substitutive urethroplasty.

The analysis of graft microphotos made in different time periods after urethroplasty allows us to define the main thing. In our point of view, the absence of evaluation changes after 90–120 postoperative days allows us to estimate a correct time for the second stage of urethroplasty-tubularization. stages of microvasculature evolution.

Considering the statement that microvasculature evolution is the evolution of its graft, we think that the correct research direction is to study microangiogenesis stimulation methods.

Keywords: urethral stricture, graft, buccal mucosa, microvascular bed, dermatoscopy

For citation: Strotsky A. V., Obrazkov K. O., Yasiukaits D. R. Non-invasive assessment of the dynamics of change in the vascular bed in the buccal autograph during treatment of extended urethral strictures. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya medytsynskikh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2024, vol. 21, no. 3, pp. 194–202 (in Russian). https://doi.org/10.29235/1814-6023-2024-21-3-194-202

Введение. Лечение протяженных стриктур уретры остается одной из наиболее сложных и дискуссионных проблем современной урологии [1]. Методы оперативного лечения уретральной стриктуры меняются в зависимости от этиологии, локализации и протяженности поражения, фиброзной инволюции окружающих тканей [2–4]. И если способы лечения коротких одиночных стриктур

© Строцкий А. В., Образков К. О., Ясюкайть Д. Р., 2024

бульбозного и пенильного отделов уретры хорошо разработаны и во многих случаях сводятся к выполнению внутренней оптической уретротомии или анастомотической уретропластики «конец в конец», то проблема протяженных и пануретральных стриктур менее изучена, а литературные источники на этот счет не дают однозначных ответов. Наиболее предпочтительным способом лечения в случае протяженного спонгиофиброза является заместительная (аугментационная) уретропластика с использованием флаппов (лоскутов на сосудистой ножке) и графтов (свободных лоскутов) [5, 6].

Большинство современных авторов отмечают благоприятные результаты одномоментных заместительных уретропластик в краткосрочной и среднесрочной перспективе и допустимый при этом процент осложнений [7–9]. Таким образом, большинство неосложненных протяженных стриктур уретры может быть успешно пролечено с применением одноэтапных операций [10]. Однако лечение сложных стриктур с рубцовой деформацией уретры, рецидивирующими инфекциями, свищами, предыдущими множественными безуспешными уретральными реконструкциями, тотальной облитерацией просвета уретры представляет затруднения, поэтому в таких случаях более предпочтительно лечение с использованием многоэтапных вмешательств [8–14]. Многоэтапные реконструкции могут быть применены и при некоторых протяженных и пануретральных стриктурах [7, 15]. Первым этапом выполняется иссечение уретральной площадки с фиксацией буккального графта, вторым этапом (не ранее чем через 6 мес.) является тубуляризация уретры [16, 17].

В отечественной и зарубежной литературе практически отсутствуют работы об эволюции графта в период между первым и вторым этапом заместительной буккальной уретропластики, а также работы об адаптации буккальной слизистой к новым условиям. Исследования в этой области могут представлять не только научный, но и клинический интерес в отношении послеоперационного прогноза [18].

Оценка микрососудов графта в раннем и позднем послеоперационном периоде возможна с применением инвазивных методик – биопсии и патоморфологического исследования. Однако данный метод, по понятным причинами, не может быть рекомендован к рутинному использованию.

Цель работы – оценить роль дерматоскопии в объективной оценке микрососудистой сети трансплантата слизистой оболочки щеки после двухэтапной заместительной уретропластики и определить динамику изменений сосудистой сети после трансплантации слизистой щеки.

Материалы и методы исследования. Современным (и вместе с тем неинвазивным) методом визуализации микрососудов графта является метод дерматоскопии с использованием как поляризованного, так и неполяризованного света. В большинстве случаев применяют светоизлучающие диоды, которые обеспечивают освещение, а также дерматоскопы, оснащенные линзами с 10–20-кратным увеличением [19, 20]. Необходимым условием для применения неполяризованного света является наличие иммерсионной жидкости (индекс преломления которой в идеале совпадает с индексом преломления слизистой уретры). При использовании дерматоскопии чрезвычайно важно устранить так называемые воздушные карманы между стеклянной пластиной дерматоскопа, иммерсионной жидкостью и поверхностью графта. Такие воздушные карманы создают зону контакта слизистой графта с воздухом, которая делает невозможной визуализацию микрососудов графта, расположенных глубже базальной мембраны буккальной слизистой. Использование спиртовых растворов в качестве иммерсионной жидкости нецелесообразно, так как усиливает болевой синдром, особенно в первые сутки после оперативного лечения, и вызывает химический ожог аутотрансплантата. Большие преимущества имеют гель для УЗИ или антибактериальный гель (Ronger et. al., 2002; Pursell et Kelly, 2006). Кровеносные сосуды графта могут слегка бледнеть даже при незначительном надавливании. Поэтому для предотвращения обесцвечивания сосудов рекомендуют заменить иммерсионную среду (масло или спирт) на гель для УЗИ. Высокая вязкость геля позволяет прикладывать дерматоскоп к слизистой графта с минимальным давлением.

Кровеносные сосуды, гиперемия, возникающая вследствие увеличения кровенаполнения, и белые блестящие области (т. е. зоны рубцовой ткани) лучше видны в поляризованном свете [19, 20]. Поляризованный свет может проникнуть в толщу слизистой графта на глубину до 0,1 мм, в результате чего достаточное количество поляризованного света изменит свой угол поляризации, сможет пройти через кросс-поляризационный фильтр и станет видимым для глаз, что позволяет визуализировать более глубокие слои графта и кровеносные сосуды.

В ходе исследования осуществлялось наблюдение за состоянием буккальных графтов в послеоперационном периоде у 14 пациентов, перенесших заместительную уретропластику протяженных стриктур пенильного отдела уретры в период с января 2018 г. по январь 2023 г. на базе урологических отделений УЗ «4-я городская клиническая больница им. Н. Е. Савченко». Всем пациентам выполнено оперативное лечение по методике Бракка 1 (первый этап оперативного лечения). В дальнейшем 12 пациентов перенесли второй этап оперативного лечения по методике Бракка 2 – тубуляризацию уретры.

Неинвазивное исследование сосудистой сети графта осуществлялось с помощью цифрового видеодерматоскопа Handyscope, ассоциированного со смартфоном iPhone 6 с программным обеспечением Handyscope 3 (мобильное приложение для iOS). Дерматоскопия графта проводилась в поляризованном и неполяризованном свете на 3–5-е сутки после операции. После выписки из стационара дерматоскопический контроль состояния графта осуществляли на 7, 14, 21, 30, 60- и 90-е сутки.

Результаты и их обсуждение. В течение первых 3–5 сут после оперативного лечения (заместительной буккальной пластики по методике Бракка 1) в исследуемых участках графта микрососудистая сеть отсутствует, графт отечен, инфильтрирован. Микроскопическая картина представлена сплошной «розовой вуалью». Видны точечные геморрагии в виде бесформенных сгустков от 1 до 3 мм – микрогематомы между графтом и ложем (рис. 1). Питание графа происходит только за счет диапедеза со стороны ложа графта. Видны сохраненные рубцовые ткани на «донорском месте», погрешности гемостаза с образованием гематом между графтом и донорским местом, что ухудшает прогноз трансплантации. К 7-м суткам происходит лизирование подграфтных гематом и появляются первые сосудистые элементы (рис. 2).

6–7-е сутки. Крайне важный период в эволюции микрососудов графта – время появления первых сосудистых элементов. *Точечные сосуды* имеют вид небольших красных или розовых точек диаметром от 0,01–0,02 до 0,1 мм и представляют собой сосуды, расположенные перпендикулярно к поверхности графта (естественный рост микрососудов от ложа). Вероятно, начиная с 7-х суток графт начинает получать питание в основном за счет сосудистой сети. Точечные сосуды расположены неравномерно (рис. 2).

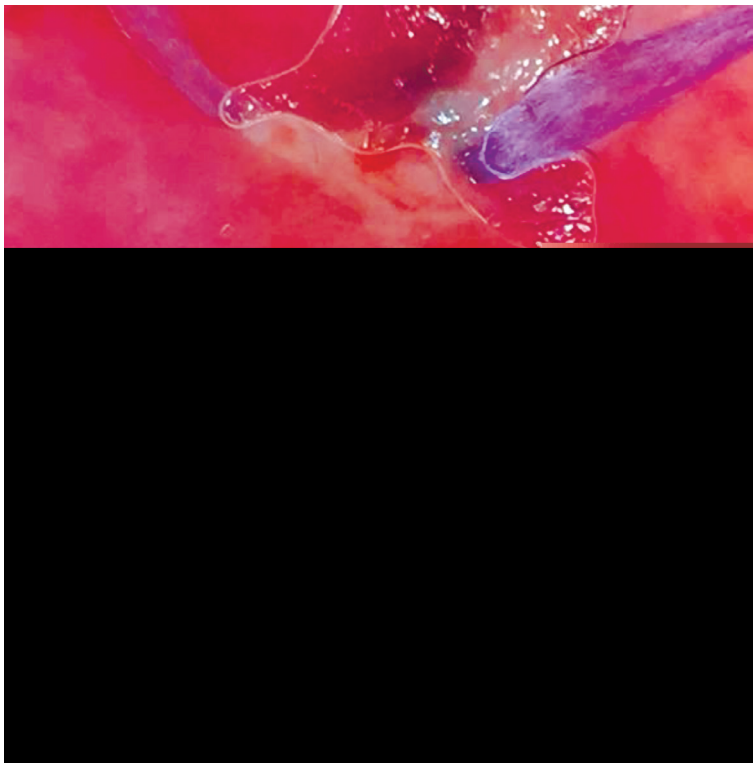


Рис. 1. Картина «розовой вуали» с подграфтными микрогематомами (через 3–5 сут после операции)

Fig. 1. Picture of a “pink veil” with subgraft microhematomas (3–5th days after operation)

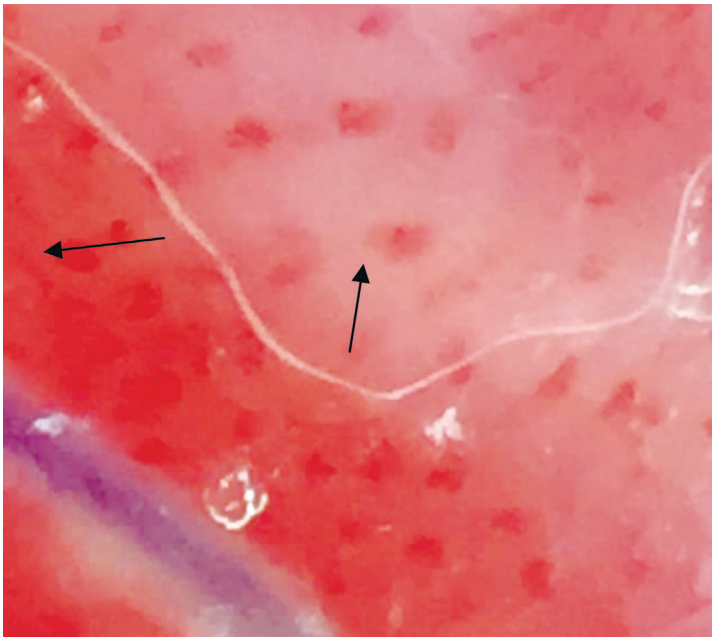


Рис. 4. Клубочкоподобные сосуды

Fig. 4. Glomerular vessels

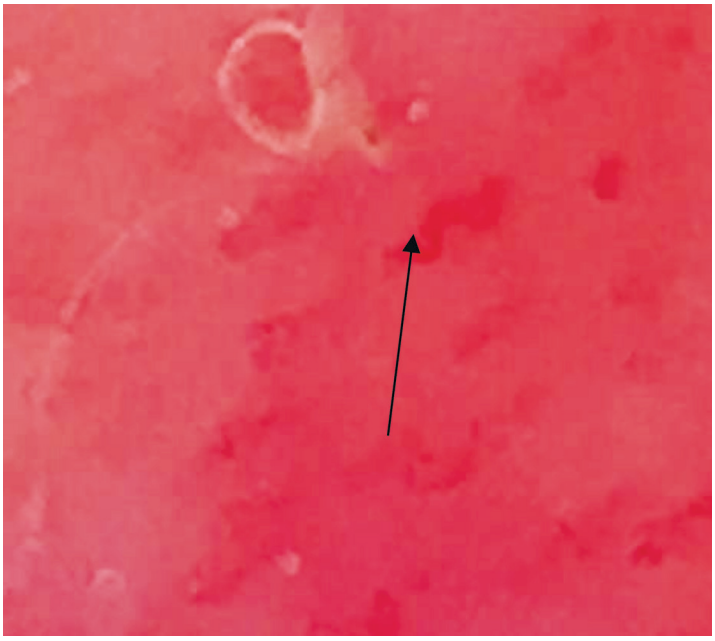


Рис. 5. Извитые сосуды

Fig. 5. Twisted vessels

14–21-е сутки. На смену точечным элементам и однообразию сосудистых проявлений приходит многообразие сосудистых элементов.

Клубочкоподобные сосуды – микроскопическое отображение скрученных и расширенных капилляров, отдаленно напоминающих капилляры, формирующие гломерулярный аппарат почки. Клубочкоподобные сосуды являются признаком усложнения сосудистой микросети (рис. 4).

Извитые сосуды – микроскопическое изображение извитых капилляров разного калибра и формы, наиболее часто встречаются в зонах лигатурной фиксации графта (рис. 5).

Правильные линейные сосуды – линейные красные сосудистые структуры с однотипной формой и размерами. Являются основным сосудистым элементом к 14–21-м суткам после буккаль-

ной уретропластики (рис. 6). Плотность прямых линейных сосудов к 21-м суткам позволяет с уверенностью говорить об успешной аутотрансплантации буккального графта.

21–30-е сутки. Изменение сосудистых элементов повсеместно приобретает линейный характер, число точечных элементов к 20–30-м суткам неуклонно уменьшается, полностью исчезая на 30-е сутки. До 30-х суток плотность линейных сосудов постоянно увеличивается, но капиллярная сеть однослойная. С 30-х суток сосудистая сеть постепенно приобретает многослойность, этажность, линейные элементы переплетаются между собой, приобретая вид сети. Видны и поверхностные, и глубокие микрососуды графта. Только к 30-м суткам в местах лигатурной фиксации на микрофотографиях пропадают бессосудистые зоны. По периферии графта сохраняются бедные сосудистыми элементами зоны (рис. 7).

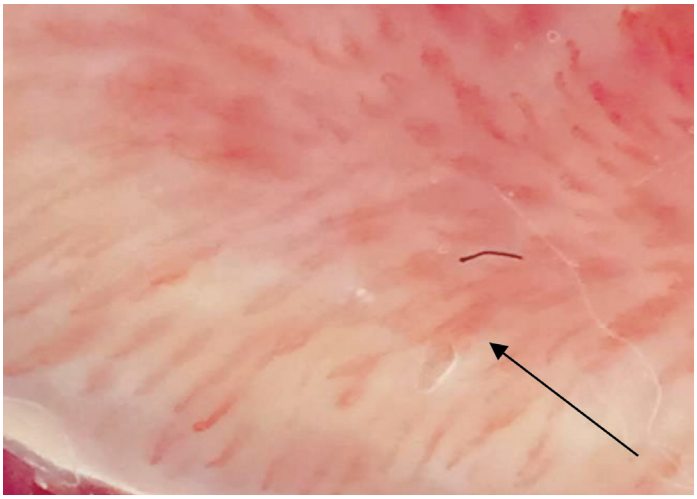


Рис. 6. Правильные линейные сосуды

Fig. 6. Regular linear vessels

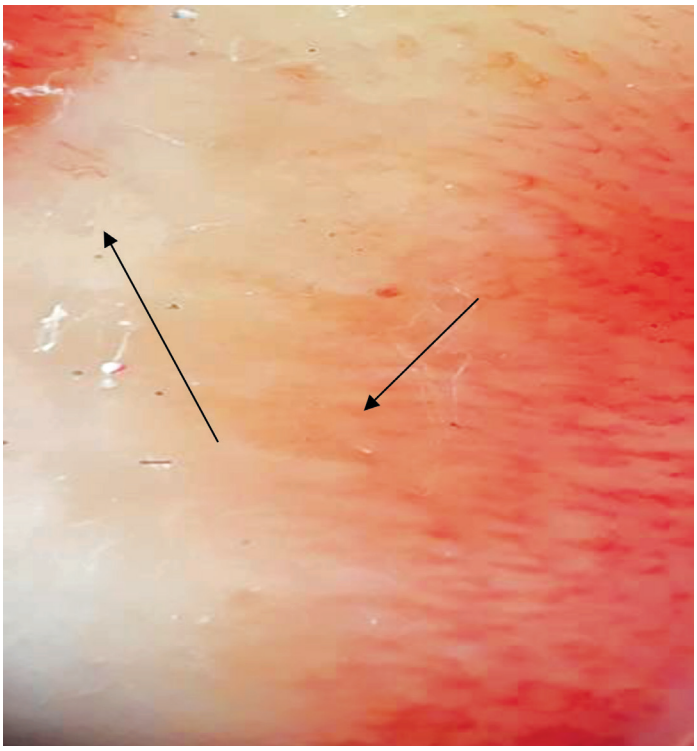


Рис. 7. Сосудистая сеть и бессосудистые зоны

Fig. 7. Vascular network and avascular zones

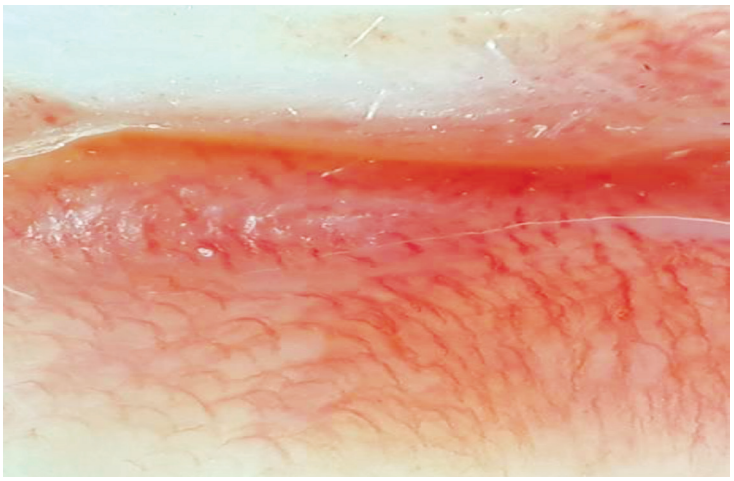


Рис. 8. Сосудистая сеть в виде рыбьей чешуи

Fig. 8. Vascular network in the form of fish scales

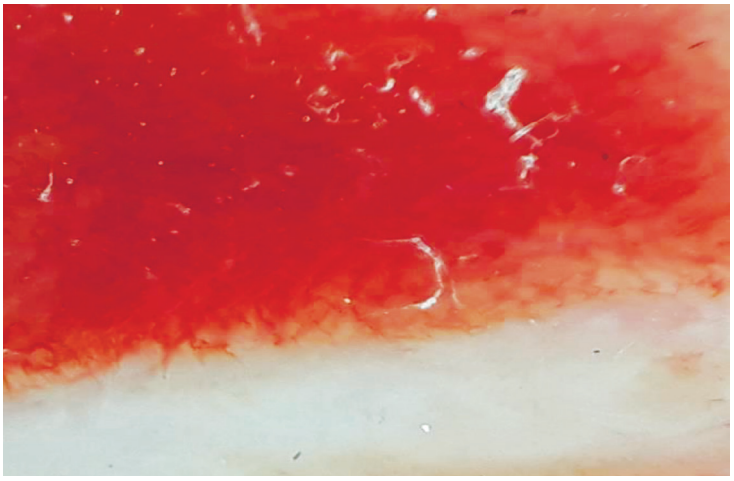


Рис. 9. Финальный этап эволюции микрососудистой сети буккального графта

Fig. 9. Final stage of the evolution of the microvascular network of a buccal graft

60-е сутки. Сосудистая микросеть носит многослойный характер, элементы приобретают извитую, дугообразную и петлевую форму. Отдельные поля имеют вид рыбьей чешуи (рис. 8). Правильные линейные сосуды элементы появляются и на периферии графта. Четко видна граница между васкуляризованным аутотрансплантатом и тканями уретральной площадки.

90–120-е сутки. На микрофотографии сосудистая сеть многослойна, отдельные ее элементы не определяются или определяются только по краям графта. Исчезает многообразие элементов, вернее, становится невозможной оценка многообразия элементов в сплошной сети. Это финал «эволюции» микросети графта. Спустя 120 сут изменения микрофотографического образа уже отсутствуют (рис. 9).

Заключение. Многоэтапные реконструкции позволяют обеспечить хороший результат при лечении сложных стриктур с рубцовой деформацией уретры, рецидивирующими инфекциями, свищами, предыдущими множественными безуспешными уретральными реконструкциями, тотальной облитерацией просвета уретры.

Дерматоскопия с использованием как поляризованного, так и неполяризованного света показала себя как современный неинвазивный метод визуализации микрососудов графта в послеоперационном периоде при многоэтапных уретропластиках. Предпочтительно использование светоизлучающих диодов, которые обеспечивают адекватное освещение, а также дерматоскопов, оснащенных линзами с 10–20-кратным увеличением.

Эффективность аутотрансплантации буккальной слизистой при заместительной уретропластике напрямую зависит от скорости прорастания микрососудов, обеспечивающих питание графта, а следовательно, можно утверждать, что эволюция графта – это эволюция его сосудистой сети.

Появление определенных сосудистых элементов в указанных временных рамках в толще аутографта позволяет с большой долей уверенности судить об успешности адаптации трансплантата буккальной слизистой, а значит, об успешности первого этапа заместительной уретропластики.

Наличие длительно сохраняющихся бессосудистых зон указывает на необходимость использования более редких фиксирующих швов как в центральной части графта, так и по периферии либо об ином способе фиксации графта (биологические клеи, биопленки).

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список использованных источников

1. Коган, М. И. Стриктуры уретры у мужчин. Реконструктивно-восстановительная хирургия / М. И. Коган. – М.: Практ. медицина, 2010. – 144 с.

2. Peterson, A. C. Management of urethral stricture disease: developing options for surgical intervention / A. C. Peterson, G. D. Webster // BJU Int. – 2004. – Vol. 94, N 7. – P. 971–976. https://doi.org/10.1111/j.1464-410x.2004.05088.x

3. Anterior urethral strictures: etiology and characteristics / A. S. Fenton [et al.] // Urology. – 2005. – Vol. 65, N 6. – P. 1055–1058. https://doi.org/10.1016/j.urology.2004.12.018

4. Etiology of urethral stricture disease in the 21st century / N. Lumen [et al.] // J. Urol. – 2009. – Vol. 182, N 3. – P. 983–987. https://doi.org/10.1016/j.juro.2009.05.023

5. Long-term follow-up for excision and primary anastomosis for anterior urethral strictures / E. A. Eltahawy [et al.] // J. Urol. – 2007. – Vol. 177, N 5. – P. 1803–1806. https://doi.org/10.1016/j.juro.2007.01.033

6. Wessells, H. Current controversies in anterior urethral stricture repair: free-graft versus pedicled skin-flap reconstruction / H. Wessells, J. W. McAninch // World J. Urol. – 1998. – Vol. 16, N 3. – P. 175–180. https://doi.org/10.1007/s003450050048

7. Gallegos, M. A. Advances in urethral stricture management / M. A. Gallegos, R. A. Santucci // F1000Research. – 2016. – Vol. 5. – Art. 2913. https://doi.org/10.12688/f1000research.9741.1

8. One-sided anterior urethroplasty: a new dorsal onlay graft technique / S. Kulkarni [et al.] // BJU Int. – 2009. – Vol. 104, N 8. – P. 1150–1155. https://doi.org/10.1111/j.1464-410X.2009.08590.x

9. Dorsal buccal mucosal graft urethroplasty by a ventral sagittal urethrotomy and minimal-access perineal approach for anterior urethral stricture / N. P. Gupta [et al.] // BJU Int. – 2004. – Vol. 93, N 9. – P. 1287–1290. https://doi.org/10.1590/s1677-55382007000200008

10. Management of panurethral stricture disease in India / S. B. Kulkarni, P. M. Joshi, K. Venkatesan // J. Urol. – 2012. – Vol. 188, N 3. – P. 824–830. https://doi.org/10.1016/j.juro.2012.05.020

11. Котов, С. В. Стриктуры уретры у мужчин. Выбор метода уретропластики / С. В. Котов. – М.: АБВ-пресс, 2018. – 184 с.

12. Kulkarni, B. A new technique for urethroplasty for balanitis xerotica obliterans / B. Kulkarni, J. S. Kulkarni, D. V. Kirpekar // J. Urol. – 2000. – Vol. 163 (Suppl.). – Art. 352.

13. Lichen sclerosis of male genitalia involving anterior urethra / G. Barbagli [et al.] // Lancet. – 1999. – Vol. 354, N 9176. – P. 429. https://doi.org/10.1016/s0140-6736(05)75851-7

14. Marshall, S. D. Dorsal inlay buccal mucosal graft (Asopa) urethroplasty for anterior urethral stricture / S. D. Marshall, V. T. Raup, S. B. Brandes // Transl. Androl. Urol. – 2015. – Vol. 4, N 1. – P. 10–15.

15. Buccal mucosal urethroplasty: a versatile technique for all urethral segments / D. Dubey [et al.] // BJU Int. – 2005. – Vol. 95, N 4. – P. 625–629. https://doi.org/10.1111/j.1464-410x.2005.05352.x

16. Oral mucosal grafts urethroplasty for the treatment of long segmented anterior urethral strictures / Y.-M. Xu [et al.] // World J. Urol. – 2009. – Vol. 27, N 4. – P. 565–571. https://doi.org/10.1007/s00345-009-0378-0

17. Dorsal onlay buccal mucosal graft urethroplasty in long anterior urethral stricture / B. Datta [et al.] // Int. Brazil. J. Urol. – 2007. – Vol. 33, N 2. – P. 181–187.

18. Lozano, J. L. Substitution urethroplasty. Long term follow up results in a group of 50 patients / J. L. Lozano, A. Arruza // Arch. Esp. Urol. – 2015. – Vol. 68, N 4. – P. 424–428.

19. Polarized and nonpolarized dermoscopy : the explanation for the observed differences / Y. Pan [et al.] // Arch. Dermatol. – 2008. – Vol. 144, N 6. – P. 828–829. https://doi.org/10.1001/archderm.144.6.828

20. Differences between polarized light dermoscopy and immersion contact dermoscopy for the evaluation of skin lesions / C. Benvenuto-Andrade [et al.] // Arch. Dermatol. – 2007. – Vol. 143, N 3. – P. 329–338. https://doi.org/10.1001/archderm.143.3.329

References

1. Kogan M. I. *Urethral strictures in men. Reconstructive surgery.* Moscow, Prakticheskaya meditsina Publ., 2010. 144 p. (in Russian).

2. Peterson A. C., Webster G. D. Management of urethral stricture disease: developing options for surgical intervention. *BJU International*, 2004, vol. 94, no. 7, pp. 971–976. https://doi.org/10.1111/j.1464-410x.2004.05088.x

3. Fenton A. S., Morey A. F., Aviles R., Garcia C. R. Anterior urethral strictures: etiology and characteristics. *Urology*, 2005, vol. 65, no. 6, pp. 1055–1058. https://doi.org/10.1016/j.urology.2004.12.018

4. Lumen N., Hoebeke P., Willemsen P., De Troyer B., Pieters R., Oosterlinck W. Etiology of urethral stricture disease in the 21st century. *Journal of Urology*, 2009, vol. 182, no. 3, pp. 983–987. https://doi.org/10.1016/j.juro.2009.05.023

5. Eltahawy E. A., Virasoro R., Schlossberg S. M., McCammon K. A., Jordan G. H. Long-term follow-up for excision and primary anastomosis for anterior urethral strictures. *Journal of Urology*, 2007, vol. 177, no. 5, pp. 1803–1806. https://doi.org/10.1016/j.juro.2007.01.033

6. Wessells H., McAninch J. W. Current controversies in anterior urethral stricture repair: free-graft versus pedicled skin-flap reconstruction. *World Journal of Urology*, 1998, vol. 16, no. 3, pp. 175–180. https://doi.org/10.1007/s003450050048

7. Gallegos M. A., Santucci R. A. Advances in urethral stricture management. *F1000Research*, 2016, vol. 5, art. 2913. https://doi.org/10.12688/f1000research.9741

8. One-sided anterior urethroplasty: a new dorsal onlay graft technique / S. Kulkarni [et al.] // BJU Int. – 2009. – Vol. 104, N 8. – P. 1150–1155. https://doi.org/10.1111/j.1464-410X.2009.08590.x

9. Dorsal buccal mucosal graft urethroplasty by a ventral sagittal urethrotomy and minimal-access perineal approach for anterior urethral stricture / N. P. Gupta [et al.] // BJU Int. – 2004. – Vol. 93, N 9. – P. 1287–1290. https://doi.org/10.1590/s1677-55382007000200008

10. Management of panurethral stricture disease in India / S. B. Kulkarni, P. M. Joshi, K. Venkatesan // J. Urol. – 2012. – Vol. 188, N 3. – P. 824–830. https://doi.org/10.1016/j.juro.2012.05.020

11. Kotov S. V. *Urethral strictures in men. The choice of method of urethroplasty*. Moscow, ABV-press Publ., 2018. 184 p. (in Russian).

12. Kulkarni B., Kulkarni J. S., Kirpekar D. V. A new technique for urethroplasty for balanitis xerotica obliterans. *Journal of Urology*, 2000, vol. 163 (suppl.), art. 352.

13. Lichen sclerosis of male genitalia involving anterior urethra / G. Barbagli [et al.] // Lancet. – 1999. – Vol. 354, N 9176. – P. 429. https://doi.org/10.1016/s0140-6736(05)75851-7

14. Marshall, S. D. Dorsal inlay buccal mucosal graft (Asopa) urethroplasty for anterior urethral stricture / S. D. Marshall, V. T. Raup, S. B. Brandes // Transl. Androl. Urol. – 2015. – Vol. 4, N 1. – P. 10–15.

15. Buccal mucosal urethroplasty: a versatile technique for all urethral segments / D. Dubey [et al.] // BJU Int. – 2005. – Vol. 95, N 4. – P. 625–629. https://doi.org/10.1111/j.1464-410x.2005.05352.x

16. Oral mucosal grafts urethroplasty for the treatment of long segmented anterior urethral strictures / Y.-M. Xu [et al.] // World J. Urol. – 2009. – Vol. 27, N 4. – P. 565–571. https://doi.org/10.1007/s00345-009-0378-0

17. Dorsal onlay buccal mucosal graft urethroplasty in long anterior urethral stricture / B. Datta [et al.] // Int. Brazil. J. Urol. – 2007. – Vol. 33, N 2. – P. 181–187.

18. Lozano, J. L. Substitution urethroplasty. Long term follow up results in a group of 50 patients / J. L. Lozano, A. Arruza // Arch. Esp. Urol. – 2015. – Vol. 68, N 4. – P. 424–428.

19. Polarized and nonpolarized dermoscopy : the explanation for the observed differences / Y. Pan [et al.] // Arch. Dermatol. – 2008. – Vol. 144, N 6. – P. 828–829. https://doi.org/10.1001/archderm.144.6.828

20. Differences between polarized light dermoscopy and immersion contact dermoscopy for the evaluation of skin lesions / C. Benvenuto-Andrade [et al.] // Arch. Dermatol. – 2007. – Vol. 143, N 3. – P. 329–338. https://doi.org/10.1001/archderm.143.3.329

Информация об авторах

Строцкий Александр Владимирович – д-р мед. наук, профессор, заведующий кафедрой. Белорусский государственный медицинский университет (пр. Дзержинского, 83, 220116, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: astrotsky@gmail.com

Образков Кирилл Олегович – аспирант. Белорусский государственный медицинский университет (пр. Дзержинского, 83, 220116, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: kobrazkov@gmail.com

Ясюкайть Дмитрий Романович – заведующий отделением. 4-я городская клиническая больница имени Н. Е. Савченко (ул. Розы Люксембург, 110, 220036, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: jasjukajjt-dima@rambler.ru

Information about the authors

Alexandr V. Strotsky – D. Sc. (Med.), Professor, Head of the Department. Belarusian State Medical University (83, Dzerzhynski Ave., 220116, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: astrotsky@gmail.com

Kirill O. Obrazkov – Postgraduate Student. Belarusian State Medical University (83, Dzerzhynski Ave., 220116, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: kobrazkov@gmail.com

Dmitriy R. Yasiukaits – Head of the Department. 4th City Clinical Hospital named after N. E. Savchenko (110, R. L. Luxembourg Str., 220036, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: jasjukajjt-dima@rambler.ru

ISSN 1814-6023 (Print)
ISSN 2524-2350 (Online)
УДК 616.711-007.54-02:616.711-007.1-053.1]-07.089
https://doi.org/10.29235/1814-6023-2024-21-3-203-212

Поступила в редакцию 01.03.2024
Received 01.03.2024

Е. В. Сошникова, И. А. Ильясевич, Д. К. Тесаков, М. А. Герасименко, К. В. Пустовойтов

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

ПРИМЕНЕНИЕ НЕЙРОФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ В ДИАГНОСТИКЕ И ОБОСНОВАНИИ НЕЙРОХИРУРГИЧЕСКОГО ЛЕЧЕНИЯ КИФОТИЧЕСКОЙ ДЕФОРМАЦИИ НА ПОЧВЕ ВРОЖДЕННОЙ АНОМАЛИИ РАЗВИТИЯ ПОЗВОНОЧНИКА

Аннотация. Проведен анализ результатов комплексного клинико-лучевого и нейрофизиологического исследования у пациентов с кифотической деформацией грудного и поясничного отделов позвоночника на почве врожденной аномалии развития позвонков в динамике хирургического лечения. Установлено, что врожденная кифотическая деформация позвоночника сопровождается вертебро-медуллярным конфликтом с высоким риском возникновения и/или нарастания спинальных неврологических расстройств. Изучение полученных данных позволило оценить деформационное поражение позвоночника с позиции качественно-количественной выраженности патологических изменений проводниковой функции в системе нервных трактов спинного мозга, что явилось объективным аргументом в обосновании показаний для проведения хирургической коррекции и ее методологического осуществления, а также важным нейрофизиологическим критерием последующего динамического наблюдения за клиническим состоянием пациента.

Проведенное хирургическое лечение позволило улучшить и в последующем стабилизировать функциональное состояние спинного мозга благодаря достигнутой значимой коррекции врожденной кифотической деформации позвоночника.

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

Для цитирования: Применение нейрофизиологических исследований в диагностике и обосновании нейрохирургического лечения кифотической деформации на почве врожденной аномалии развития позвоночника / Е. В. Сошникова [и др.] // Вес. Нац. акад. навук Беларусі. Сер. мед. навук. – 2024. – Т. 21, № 3. – С. 203–212. https://doi.org/10.29235/1814-6023-2024-21-3-203-212

Elena V. Soshnikova, Inessa A. Ilyasevich, Dmitriy K. Tesakov, Mikhail A. Gerasimenko, Kirill V. Pustovoitov

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

APPLICATION OF NEUROPHYSIOLOGICAL STUDIES FOR DIAGNOSIS AND JUSTIFICATION OF NEUROSURGICAL TREATMENT OF KYPHOTIC DEFORMITY DUE TO THE CONGENITAL ANOMALY OF THE SPINE

Abstract. The results of a comprehensive clinical, radiological and neurophysiological study were analyzed in patients with kyphotic deformity of the thoracic and lumbar spine due to a congenital anomaly of vertebral development in the dynamics of surgical treatment. It has been established that congenital kyphotic spinal deformity is accompanied by vertebromedullary conflict with a high risk of the occurrence and/or worsening of spinal neurological disorders. The study of the data obtained made it possible to evaluate deformation lesions of the spine from the standpoint of qualitative and quantitative severity of pathological changes in the conduction function in the system of nervous tracts of the spinal cord, which was an objective argument in justifying the indications for surgical correction and its methodological implementation, as well as an important neurophysiological criterion for subsequent dynamic monitoring of clinical conditions of a patient.

It was found that the surgical treatment allowed us to improve and subsequently stabilize the functional state of the spinal cord as a consequence of the achieved significant correction of congenital kyphotic spinal deformity.

Keywords: kyphotic deformity, spinal cord, congenital anomaly of the spine, somatosensory evoked potentials, motor evoked potentials, transcranial magnetic stimulation, surgical treatment

For citation: Soshnikova E. V., Ilyasevich I. A., Tesakov D. K., Gerasimenko M. A., Pustovoitov K. V. Application of neurophysiological studies for diagnosis and justification of neurosurgical treatment of kyphotic deformity due to the congenital anomaly of the spine. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya medytsynskikh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2024, vol. 21, no. 3, pp. 203–212 (in Russian). https://doi.org/10.29235/1814-6023-2024-21-3-203-212

Введение. К актуальным разделам современной ортопедии детского возраста относятся врожденные аномалии развития позвоночника (ВАРП), на долю которых приходится от 2 до 11 % всех врожденных аномалий. Развивающиеся при этом деформации позвоночного столба достаточно быстро прогрессируют, достигая III–IV степени уже в раннем и дошкольном возрасте, что приводит к тяжелым изменениям всего осевого скелета и к нарушению функций внутренних органов [1]. К числу наиболее распространенных прогрессирующих деформаций относят поражения позвоночника на фоне аномального формирования тела позвонка – по типу клиновидного позвонка или полупозвонка. При этом перспектива клинического сценария патологии определяется уровнем локализации аномального позвонка, величиной дуги искривления, а также плоскостным типом деформационного поражения (сколиозогенный, кифозогенный, кифосколиозогенный) [2–7]. При всех вариантах аномального развития позвонков общим неблагоприятным фактором является кифотический компонент деформации, наличие которого указывает на ее прогрессирование в 89 % случаев [3].

Аномалии тел позвонков, приводящие к развитию тяжелой кифотической деформации позвоночника, наиболее часто локализуются в области грудного и поясничного отделов. Они характеризуются сложной биомеханикой с нарушением сагиттального профиля, формированием и прогрессированием нестабильности на уровне пораженного позвоночно-двигательного сегмента [8].

Развитие кифотической деформации сопровождается возникновением и усугублением вертебромедуллярного конфликта, когда в патологический процесс вовлекается находящийся в позвоночном канале спинной мозг (СМ), который подвергается компримирующему смещению и деформированию. Нарушение интравертебрального статуса СМ сопровождается высоким риском возникновения или усугубления спинальных неврологических расстройств с утяжелением клинического проявления врожденного заболевания и является объективным обоснованием для проведения хирургического лечения [9–11].

Современные технологии оперативного вмешательства направлены на удаление аномальных позвонков, восстановление нормальных анатомотопографических взаимоотношений СМ в позвоночном канале, после чего с помощью имплантируемых металлоконструкций осуществляется коррекция деформации и ее фиксирующая стабилизация с восстановлением или улучшением физиологических изгибов позвоночника. Хирургическое лечение кифоза на почве ВАРП относится к категории высокотравматичных вмешательств, так как сопряжено с высоким риском провокации различных периоперационных осложнений [12–14]. Поэтому применение того или иного способа планируемого вмешательства следует определять индивидуально. Для этого необходимы соответствующие диагностические подходы при подготовке пациента к хирургическому воздействию.

В настоящее время основной оценкой варианта ВАРП и параметров выраженности деформации являются методы лучевой диагностики [2, 15–17]. Динамическое наблюдение за состоянием позвоночника с помощью этих методов в процессе роста и развития ребенка как пациента требует значительного времени, в течение которого могут развиться необратимые негативные изменения, характеризующиеся тяжелым и ригидным искривлением позвоночного столба, а также неврологическими спинальными нарушениями. Поэтому необходимо получение объективной информации о состоянии и возможных изменениях двигательной функции, спинальных нервных процессов в условиях вертеброгенной патологии. Если клиническая картина не соответствует данным нейровизуализации, которые дает магнитно-резонансная томография (МРТ) позвоночника, или проведение МРТ невозможно, применяют нейрофизиологические методы, которые обеспечивают получение количественной информации о функциональном состоянии центральных и периферических структур нервно-мышечной системы [18].

Следует отметить, что в литературе крайне мало внимания уделено вопросам функциональной диагностики и прогноза результативности хирургической коррекции кифотической деформации позвоночника по данным ранних и отсроченных реакций чувствительных и двигательных сфер. Также практически не проводился анализ динамики развития и восстановления нервно-мышечной функции в зависимости от тяжести кифотической деформации. Известны единичные публикации, в которых сообщается, что после хирургической коррекции деформации позвоночни-

ка можно получить положительный эффект, который касается преимущественно температурно-болевой чувствительности и обратно пропорционально зависит от тяжести деформации [19]. С помощью метода лазерной допплеровской флоуметрии доказано, что после коррекции дуги искривления позвоночника отмечаются улучшение показателей микроциркуляции нервных структур СМ и нормализация нейровегетативной регуляции его кровотока. Незначительное число работ, посвященных вопросам нейрофизиологической диагностики при патологии позвоночника, не позволяет провести систематизацию полученных данных для разработки критериев оценки функций СМ у пациентов с кифозом на почве ВАРП. Остаются неизученными особенности функционального состояния сегментарных и проводниковых структур СМ при врожденных аномалиях и кифотических деформациях позвоночника.

Цель исследования – определить нейрофизиологические критерии функционального состояния спинного мозга в условиях врожденной кифотической деформации позвоночника и их динамику при корригирующем хирургическом лечении.

Материалы и методы исследования. Изучен клинический материал 32 пациентов (14 лиц мужского пола и 18 – женского) с кифотическими деформациями позвоночника на почве ВАРП, которым в возрасте 3–17 лет было проведено хирургическое корригирующее лечение. Электрофизиологический контроль эффективности хирургического лечения выполнен у 12 обследуемых. Контрольную группу составили 20 пациентов аналогичного возраста.

Поражение на уровне верхнегрудного отдела позвоночника имелось у 3 пациентов, среднегрудного – у 5, нижнегрудного – у 8, грудопоясничного – у 9, поясничного – у 7. Кифотические деформации позвоночника были обусловлены аномальными бабочковидными позвонками у 7 пациентов, клиновидными позвонками – у 11, полупозвонками – у 14.

Величина дуги патологического кифоза на боковых рентгенограммах позвоночника, выполненных в положении стоя, в грудном отделе составила от 38 до 82°, в поясничном отделе – от 25 до 49°. У 17 пациентов кифотические деформации имели структуральный сколиотический компонент с величиной дуги во фронтальной плоскости от 18 до 64°. У пациентов с патологическим кифозом на уровне грудопоясничного и поясничного отделов клинически отмечено изменение сагиттального профиля позвоночника – уплощение грудного отдела (формирование синдрома плоской спины).

Согласно данным анамнеза, первичное клиническое проявление патологии отмечалось близкими пациента с раннего детского возраста, непосредственно после рождения или на первом году жизни. Оно заключалось в наличии участка ригидной деформации спины в грудном и/или поясничном отделах. Болевой функциональный синдром исходно не отмечен. В ходе физиологического роста у пациентов наблюдалось развитие нарушенной осанки в сагиттальной плоскости в виде сутулости, которая принимала стойкий ригидный характер. С нарастанием выраженности (тяжести) кифотической деформации отмечалось нарушение формы и пропорциональности отделов туловища, а также формирование диспропорциональности в параметрах длины туловища и длины конечностей. У 26 пациентов в динамике ростового развития, особенно к пре- и пубертатному периодам, постепенно проявлялась неврологическая спинальная переднероговая симптоматика.

Всем пациентам было проведено комплексное лучевое обследование позвоночника – рентгенография, МРТ и спиральная рентгеновская компьютерная томография (РКТ) – согласно разработанному под конкретную патологию алгоритму [10]. У 12 пациентов на подготовительном этапе планирования хирургического вмешательства применена аддитивная технология – метод 3D-проектирования и прототипирования для изготовления в натуральную величину трехмерных моделей позвоночника или его измененных отделов, напечатанных на 3D-принтере из полимерных материалов [14]. Применение данного метода позволяет более детально визуализировать и оценивать изменения позвоночного столба и его структур, осуществлять дифференцированный подход с учетом данных клинико-лучевой и нейрофизиологической диагностики, создавать и использовать индивидуальные технические решения имплантируемых конструкций эндокорректоров-фиксаторов и шаблонов-направителей для установки опорных узлов фиксации позвонков. В качестве примера на рис. 1 представлены дооперационные сканы РКТ-реконструкции и созданная 3D-модель аномального позвоночного отдела.

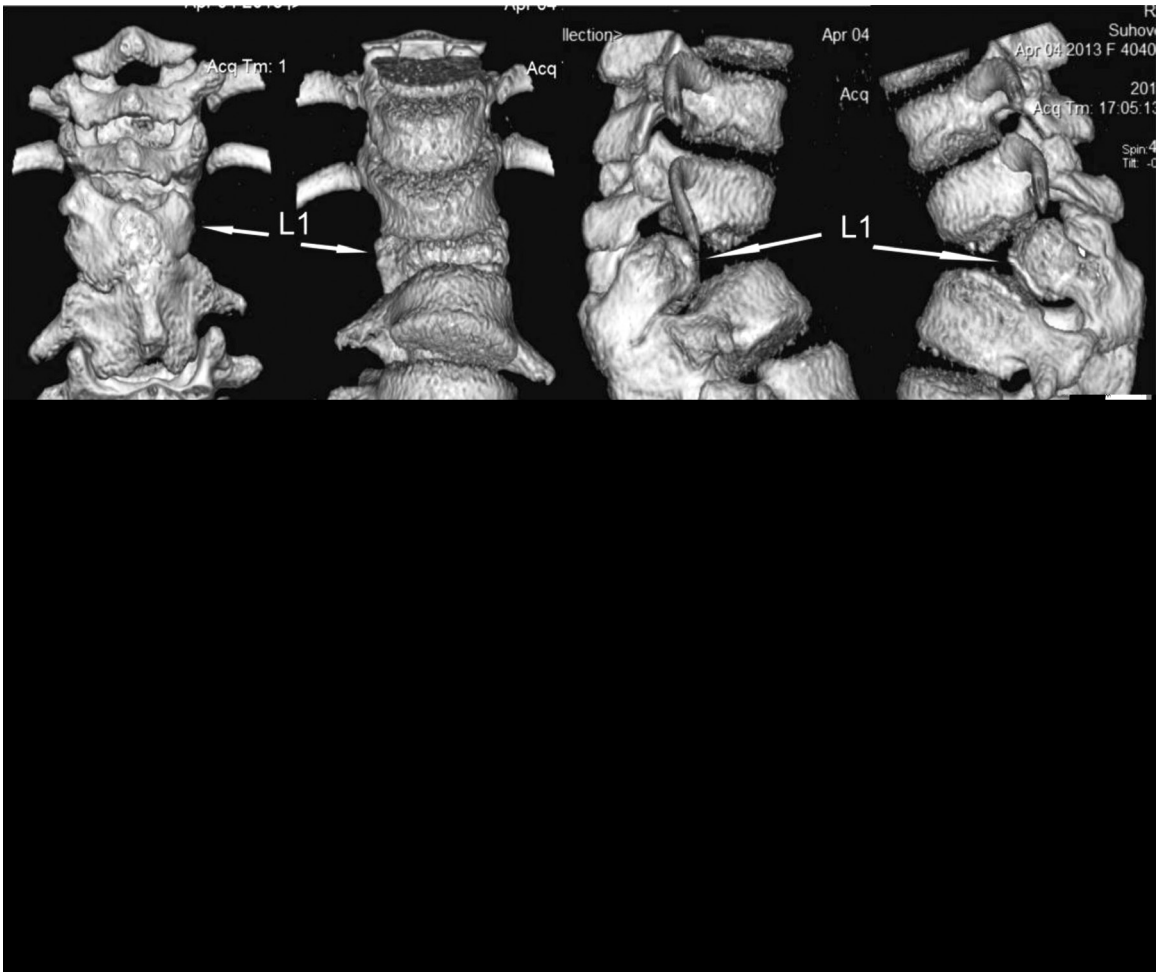


Рис. 1. Дооперационные сканы РКТ-реконструкции и созданная 3D-модель аномального позвоночного отдела

Fig. 1. Manufactured life-size model of abnormal part of the spine

Хирургическое вмешательство заключалось в выполнении из заднего доступа моделирующей вертебротомии с удалением аномальных структур позвонков, циркулярной декомпрессии СМ с реконструкцией позвоночного канала, коррекции и стабилизации деформации с применением спинальных систем – имплантируемых металлоконструкций дорсального эндокорректора-фиксатора позвоночника, разработанного в РНПЦ травматологии и ортопедии совместно с НП ООО «Медбиотех».

Всем пациентам на этапе диагностики, а также в ходе динамического наблюдения до и после хирургического лечения для оценки функционального состояния их нервно-мышечной системы применяли комплекс методов электрофизиологического исследования. С помощью суммарной электромиограммы (ЭМГ) осуществляли электрофизиологическую регистрацию биоэлектрической активности (БА) симметричных мышц нижних конечностей в состоянии физиологического покоя и при произвольном максимальном напряжении. Анализировали показатели амплитуды и частоты интерференционной кривой, а также ее структуру.

Для оценки проводимости нисходящих путей СМ осуществляли регистрацию моторного ответа (МО) мышц стоп в ответ на транскраниальную и корешковую магнитную стимуляцию (ТМС и КМС соответственно). Магнитную стимуляцию осуществляли по стандартной методике в положении больного лежа. При анализе параметров МО выбирали ответ с максимальной амплитудой (от пика до пика) и минимальным латентным периодом. Рассчитывали показатель времени центрального моторного проведения (ВЦМП), который характеризует скорость моторного проведения импульса на участке от коры головного мозга до соответствующих двигательных центров на уровне поясничного утолщения СМ. Латентное время сегментарных МО расценивали как критерий корешковой моторной проводимости [20].

торной проводимости (ВЦМП). Анализ критериев сенсорной функции СМ выявил восстановление латентного времени кортикального ССВП и индекса центральной афферентной проводимости (ССТ).

Результаты хирургического лечения пациентов с кифотическими деформациями позвоночника на почве ВАРП с применением аддитивных технологий в варианте 3D-проектирования и прототипирования на этапе предоперационной диагностики и планирования показали, что такой подход оказывает существенную практическую помощь нейрохирургу в оказании специализированной помощи. Он предоставляет возможность детально и объективно оценивать деформационную патологию, в которую вовлечен как позвоночник, так и находящийся в нем СМ, визуализировать вид деформационного поражения, а также оценивать анатомические особенности и параметры позвонков, уточнять необходимые параметры фиксирующих опорных узлов спинальной системы с определением безопасной траектории или зоны их имплантирования. Это позволяет снизить операционные риски и оптимизировать хирургическое лечение пациентов с деформацией позвоночника на почве ВАРП, что проиллюстрировано в качестве примера копиями динамики электрофизиологических паттернов МО и ССВП, зарегистрированных до и после хирургического лечения у пациента с врожденным кифозом (рис. 3).

На рис. 3 проиллюстрированы процессы нормализации сенсорной и моторной проводимости нервных трактов СМ, установленной по данным ТМС и ССВП: после операции наблюдается положительная динамика количественных критериев сенсорной (индекс ССТ) и моторной (латентное время кортикального МО) проводимости СМ.

Улучшение интравертебрального статуса СМ и восстановление электрофизиологических показателей его проводимости после хирургической коррекции кифотической деформации позвоночника отмечено у всех пациентов с ВАРП. По данным нейрофизиологического контроля,

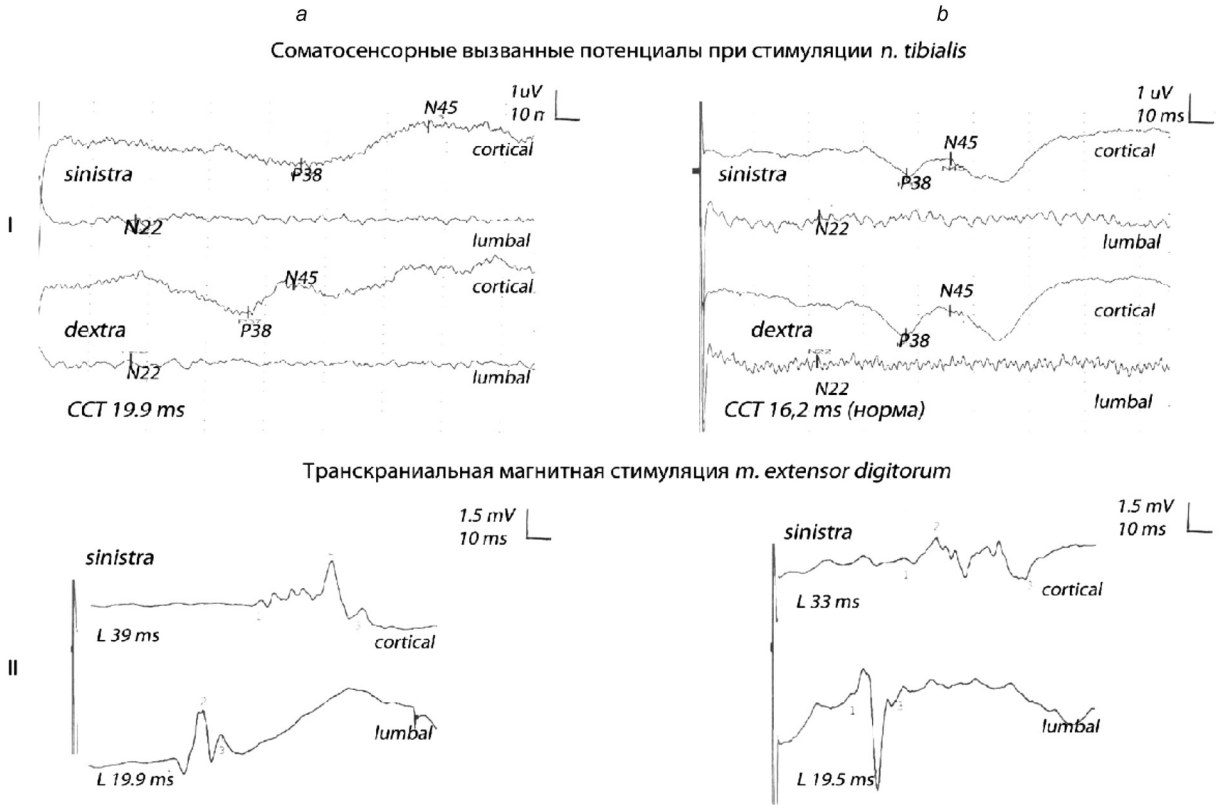


Рис. 3. Результаты исследования пациента С. с диагнозом кифотическая деформация грудного отдела позвоночника (угол дуги 70°) на почве ВАРП: *a* – до операции; *b* – через 2 недели после операции. I – соматосенсорные вызванные потенциалы; II – транскраниальная и люмбальная магнитная стимуляция; L – латентное время; ССТ – central conductive time, N22–P38 мс

Fig. 3. Results of the study of patient S., diagnosed with kyphotic deformity of the thoracic spine (arch angle 70°) due to congenital anomalies of the spine: *a* – before surgery; *b* – 2 weeks after surgery. I – somatosensory evoked potentials; II – transcranial and lumbar magnetic stimulation; L – latent time; CCT – central conductive time, N22–P38 ms

хирургическая декомпрессия нервных структур, находящихся внутри позвоночного канала на вершине дуги искривления, сопровождалась достоверным восстановлением параметров сенсорной и моторной функций проводников СМ. Позитивные изменения электрофизиологических параметров предполагали наличие достаточно высоких физиологических резервов микроциркуляторного русла СМ и пластических свойств ЦНС у пациентов с тяжелой деформацией позвоночника. Результаты проведенных исследований соответствовали клиническим данным, свидетельствующим об улучшении функционального состояния пациентов.

Заключение. Анализ материала, полученного в результате клинико-рентгенологического наблюдения и нейрофизиологического исследования у пациентов с кифотической деформацией грудного и поясничного отделов позвоночника на почве ВАРП, позволил получить объективную информацию о степени изменения проводниковой функции нервных трактов СМ.

Полученные результаты свидетельствуют о необходимости комплексного предоперационного обследования с целью повышения качества клинической и функциональной диагностики нарушений нервных трактов СМ у пациентов с кифозом, уточнения показаний и выбора оптимальной тактики хирургической коррекции в каждом конкретном клиническом случае.

Восстановление электрофизиологических критериев СМ после хирургической коррекции кифотической деформации предполагает сохранность достаточно высоких физиологических резервов СМ у пациентов с патологическим кифозом. Положительная динамика нейрофизиологических параметров, зарегистрированных после оперативного лечения у пациентов с ВАРП, отражала улучшение функционального состояния СМ вследствие уменьшения патологической дуги деформации.

Применение метода хирургической коррекции, устраняющей деформацию заинтересованных позвоночных сегментов в сочетании со стабилизирующей фиксацией осевого скелета, убедительно показало эффективность проведенного лечения у пациентов с кифотической деформацией позвоночника на почве ВАРП.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список использованных источников

1. Распространенность врожденных пороков развития позвоночника у детей в регионах Российской Федерации / А. В. Залетина [и др.] // Междунар. журн. приклад. и фундам. исследований. – 2018. – № 4. – С. 63–66.

2. Классификация врожденных аномалий развития позвоночника / Н. О. Михасевич [и др.] // Воен. медицина. – 2007. – № 3. – С. 18–21.

3. Ульрих, Э. В. Врожденные деформации позвоночника у детей: прогноз, эпидемиология и тактика ведения / Э. В. Ульрих, А. Ю. Мушкин, А. В. Губин // Хирургия позвоночника. – 2009. – № 2. – С. 55–61.

4. Михайловский, М. В. Хирургия деформаций позвоночника / М. В. Михайловский, Н. Г. Фомичев. – 2-е изд., испр. и доп. – Новосибирск: Redactio, 2011. – 588 с.

5. Казарян, И. В. Прогнозирование течения врожденных деформаций позвоночника у детей / И. В. Казарян, С. В. Виссарионов // Хирургия позвоночника. – 2014. – № 3. – С. 38–44.

6. McMaster, M. J. Prognosis for congenital scoliosis due to unilateral failure of verterbral segmentation / M. L. McMaster, E. M. McMaster // J. Bone Joint Surg. – 2013. – Vol. 95, N 11. – P. 972–979. https://doi.org/10.2106/jbjs.l.01096

7. Хусаинов, Н. О. Хирургическое лечение детей с врожденной деформацией грудного отдела позвоночника на фоне множественных аномалий развития позвонков: автореф. дис. … канд. мед. наук: 14.01.15 / Н. О. Хусаинов; Науч.-исслед. дет. ортопед. ин-т им. Г. И. Турнера. – СПб., 2018. – 24 с.

8. Хирургическое лечение детей с врожденной деформацией грудного отдела позвоночника на фоне нарушения формирования позвонков / С. В. Виссарионов [и др.] // Хирургия позвоночника. – 2013. – № 2. – С. 32–37.

9. Ларькин, И. И. Острая и хроническая вертебро-медуллярная недостаточность при повреждениях, опухолях и деформациях позвоночника у детей: автореф. дис. ... д-ра мед. наук: 14.00.35 / И. И. Ларькин; Омск. гос. мед. акад. Федеральн. агентства по здравоохр. и соц. развитию. – Омск, 2009. – 38 с.

10. Метод лучевой диагностики врожденных деформаций позвоночника: инструкция М-ва здравоохранения Респ. Беларусь, № 051-0518, 01 июня 2018 г. / А. В. Белецкий [и др.]. – Минск: б. и., 2018. – 13 л.

11. 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.

12. Рябых, С. О. Выбор хирургической тактики при врожденных деформациях позвоночника на фоне множественных пороков позвонков / С. О. Рябых // Хирургия позвоночника. – 2014. – № 2. – С. 21–28.

13. Хирургическая коррекция тяжелых форм идиопатического кифосколиоза у детей / С. В. Виссарионов [и др.] // Ортопедия, травматология и восстанов. хирургия дет. возраста. – 2019. – Т. 7, вып. 3. – С. 5–14.

14. 3D-проектирование и прототипирование в хирургическом лечении врожденных деформаций позвоночника у детей: наш первый опыт / М. А. Герасименко [и др.] // Хирургия позвоночника. – 2021. – Т. 18, № 1. – С. 24–30.

15. Гуничева, Н. В. Магнитно-резонансная томография в дифференциальной диагностике клиновидных деформаций позвонков / Н. В. Гуничева, В. Н. Шубкин, Т. А. Ахадов // Хирургия позвоночника. – 2008. – № 3. – С. 68–72.

16. Особенности лучевой картины у детей с врожденной деформацией грудного отдела позвоночника на фоне нарушения сегментации боковых поверхностей тел позвонков / С. В. Виссарионов [и др.] // Травматология и ортопедия России. – 2018. – Т. 24, № 2. – С. 41–48.

17. Кабак, С. Л. Рентгенологический фенотип врожденных пороков развития позвонков / С. Л. Кабак, В. В. Заточная, Н. О. Жижко-Михасевич // Вес. Нац. акад. навук Беларусі. Сер. мед. навук. – 2018. – Т. 15, № 4. – С. 414–421.

18. Электромиографические методы в дифференциальной диагностике и обосновании нейрохирургического лечения радикулопатий, вызванных заболеваниями позвоночника. Информативность и методология / Е. Г. Селиверстова [и др.] // Вопр. нейрохирургии им. Н. Н. Бурденко. – 2022. − № 2. – С. 109–118.

19. Исследование реакций сенсомоторной системы подростков в процессе и после хирургической коррекции деформации позвоночника / Е. Н. Щурова [и др.] // Ортопедия, травматология и восстановительная хирургия детского возраста. – 2022. – Т. 10, № 2. – С. 129–142.

20. Николаев, С. Г. Электромиография: клинический практикум / С. Г. Николаев. – 2-е изд., испр. и доп. – Иваново: ПресСто, 2019. – 392 с.

21. Гнездицкий, В. В. Вызванные потенциалы мозга в клинической практике / В. В. Гнездицкий. – М.: МЕДпресс-ин, 2003. – 246 с.

22. Куренков, А. Л. Транскраниальная магнитная стимуляция в детской неврологии / А. Л. Куренков, А. Р. Артеменко // Невролог. журн. им. Л. О. Бадаляна. – 2020. – Т. 1, № 1. – С. 47–63.

References

1. Zaletina A. V., Vissarionov S. V., Baindurashvili A. G., Sadovoi M. A., Solov'eva K. S., Ovechkina A. V., Kokushin D. N. Prevalence of congenital malformations of the spine in children in the regions of the Russian Federation. *Mezhdunarodnyi zhurnal prikladnykh i fundamental'nykh issledovanii* [International journal of applied and basic research], 2018, no. 4, pp. 63–66 (in Russian).

2. Mikhasevich N. O., Tesakov D. K., Tikhomirova T. F., Pashkevich L. A., Il'yasevich I. A., Mukhlya A. M. Classification of congenital anomalies of the spine. *Voennaya meditsina* [Military medicine], 2007, no. 3, pp. 18–21 (in Russian).

3. Ul'rikh E. V., Mushkin A. Yu., Gubin A. V. Congenital spinal deformities in children: prognosis, epidemiology and management tactics. *Khirurgiya pozvonochnika* [Spine surgery], 2009, no. 2, pp. 55–61 (in Russian).

4. Mikhailovskii M. V., Fomichev N. G. *Spinal deformity surgery.* Novosibirsk, Redactio, 2011. 588 p. (in Russian).

5. Kazaryan I. V., Vissarionov S. V. Prediction of the course of congenital spinal deformities in children. *Khirurgiya pozvonochnika* [Spine surgery], 2014, no. 3, pp. 38–44 (in Russian).

6. McMaster M. L., McMaster E. M. Prognosis for congenital scoliosis due to unilateral failure of verterbral segmentation. *Journal of Bone and Joint Surgery*, 2013, vol. 95, no. 11, pp. 972–979. https://doi.org/10.2106/jbjs.l.01096

7. Khusainov N. O. *Surgical treatment of children with congenital deformity of the thoracic spine due to multiple anomalies of vertebral development*: Abstract of Ph. D. diss. St. Petersburg, 2018. 24 p. (in Russian).

8. Vissarionov S. V., Kokushin D. N., Belyanchikov S. M., Efremov A. M. Surgical treatment of children with congenital deformity of the thoracic spine due to impaired vertebral formation. *Khirurgiya pozvonochnika* [Spine surgery], 2013, no. 2, pp. 32–37 (in Russian).

9. Lar'kin I. I. *Acute and chronic vertebro-medullary insufficiency in injuries, tumors and spinal deformities in children:* Abstract of Ph. D. diss. Omsk, 2009. 38 p. (in Russian).

10. Beletskii A. V., Zhizhko-Mikhasevich N. O., Mazurenko A. N., Krivorot K. A., Tesakov D. K., Marchuk V. P., Tesakova D. D. *Method of radiological diagnosis of congenital spinal deformities: instructions of the Ministry of Health of the Republic of Belarus, N 051-0518, June 01, 2018.* Minsk, 2018. 13 p. (in Russian).

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

12. Ryabykh S. O. Choice of surgical tactics for congenital spinal deformities against the background of multiple vertebral defects. *Khirurgiya pozvonochnika* [Spine surgery], 2014, no. 2, pp. 21–28 (in Russian).

13. Vissarionov S. V., Filippova A. N., Kokushin D. N., Murashko V. V., Belyanchikov S. M., Khusainov N. O. Surgical correction of severe forms of idiopathic kyphoscoliosis in children. *Ortopediya, travmatologiya i vosstanovitel'naya khirurgiya detskogo vozrasta* [Orthopedics, traumatology and reconstructive surgery of children], 2019, vol. 7, no. 3, pp. 5–14 (in Russian).

14. Gerasimenko M. A., Tesakov D. K., Makarevich S. V., Tesakova D. D., Bobrik P. A., Krivorot K. A., Satskevich D. G., Pustovoitov K. V. 3D design and prototyping in the surgical treatment of congenital spinal deformities in children: our first experience. *Khirurgiya pozvonochnika* [Spine surgery], 2021, vol. 18, no. 1, pp. 24–30 (in Russian).

15. Gunicheva N. V., Shubkin V. N., Akhadov T. A. Magnetic resonance imaging in the differential diagnosis of wedge-shaped vertebral deformities. *Khirurgiya pozvonochnika* [Spine surgery], 2008, no. 3, pp. 68–72 (in Russian).

16. Vissarionov S. V., Baindurashvili A. G., Khusainov N. O., Kokushin D. N., Bart V. A., Beletskii A. V. Features of the radiation picture in children with congenital deformity of the thoracic spine against the background of impaired

segmentation of the lateral surfaces of the vertebral bodies. *Travmatologiya i ortopediya Rossii* [Traumatology and orthopedics in Russia], 2018, vol. 24, no. 2, pp. 41–48 (in Russian).

17. Kabak C. L., Zatochnaya V. V., Zhizhko-Mikhasevich N. O. X-ray phenotype of congenital vertebral malformations. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya medytsynskikh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2018, vol. 15, no. 4, pp. 414–421 (in Russian).

18. Seliverstova E. G., Sinkin M. V., Kordonsky A. Yu., Aleinikova I. B., Tikhomirov I. V., Grin A. A. Electrodiagnostic evaluation in differential diagnosis and neurosurgical treatment of radiculopathies caused by spine disorders. Diagnostic value and methodology. *Burdenko's Journal of Neurosurgery*, 2022, vol. 86, no. 2, pp. 109–118. https://doi.org/10.17116/neiro202286021109

19. Shchurova E. N., Saifutdinov M. S., Akhmedova M. A., Savin D. M., Bogatyrev M. A. Study of the reactions of the sensomotor system of adolescents during and after surgical correction of spinal deformity. *Ortopediya, travmatologiya i vosstanovitel'naya khirurgiya detskogo vozrasta* [Orthopedics, traumatology and reconstructive surgery of children], 2022, vol. 10, no. 2, pp. 129–142 (in Russian).

20. Nikolaev S. G. *Electromyography: clinical workshop. 2nd ed.* Ivanovo, PresSto Publ., 2019. 392 p. (in Russian).

21. Gnezditskii V. V. *Evoked brain potentials in clinical practice.* Moscow, MEDpress-in Publ., 2003. 246 p. (in Russian).

22. Kurenkov A. L., Artemenko A. R. Transcranial magnetic stimulation in pediatric neurology. *Nevrologicheskii zhurnal imeni L. O. Badalyana* [Neurological journal named after L. O. Badalyan], 2020, vol. 1, no. 1, pp. 47–63 (in Russian).

Информация об авторах

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

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

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

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). E-mail: kanc@ortoped.by

Пустовойтов Кирилл Васильевич – ст. науч. сотрудник. Республиканский научно-практический центр травматологии и ортопедии (ул. Кижеватова, 60/4, 220024, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: kiryl.pustavoitau@gmail.com

Information about the authors

Elena V. Soshnikova – Ph. D. (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

Inessa A. Ilyasevich – D. Sc. (Biol.), Associate 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

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

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). E-mail: kanc@ortoped.by

Kirill V. Pustovoitov – Senior Researcher. Republican Scientific and Practical Center of Traumatology and Orthopedics (60/4, Kizhevatov Str., 220024, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: kiryl.pustavoitau@gmail.com

ISSN 1814-6023 (Print)
ISSN 2524-2350 (Online)
UDC 616.31-089.843-008.1-073.756.8
https://doi.org/10.29235/1814-6023-2024-21-3-213-218 Received 08.05.2024

Sergey P. Rubnikovich, Yuliya L. Denisova, Genrikh V. Bogdan

Belarusian State Medical University, Minsk, Republic of Belarus

COMPARATIVE ANALYSIS OF THE STATE OF PERI-IMPLANTATION TISSUES AFTER IMMEDIATE AND DELAYED IMPLANTATION

Abstract. The state of peri-implantation tissues was analyzed according to cone-beam computed tomography. A modified version of the alveolar index (AI_m) is proposed to assess changes in the height of the alveolar ridge in the absence of a tooth and the presence of an implant. It was found that delayed implantation is characterized by more favorable long-term results in comparison with direct implantation.

Keywords: dental implantation, cone beam computed tomography, alveolar index

For citation: Rubnikovich S. P., Denisova Yu. L., Bogdan G. V. Comparative analysis of the state of peri-implantation tissues after immediate and delayed implantation. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya medytsynskikh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2024, vol. 21, no. 3, pp. 213–218 (in Russian). https://doi.org/10.29235/1814-6023-2024-21-3-213-218

С. П. Рубникович, Ю. Л. Денисова, Г. В. Богдан

Белорусский государственный медицинский университет, Минск, Республика Беларусь

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ СОСТОЯНИЯ ПЕРИИМПЛАНТАЦИОННЫХ ТКАНЕЙ ПОСЛЕ НЕПОСРЕДСТВЕННОЙ И ОТСРОЧЕННОЙ ИМПЛАНТАЦИИ

Аннотация. Проведен анализ состояния периимплантационных тканей по данным конусно-лучевой компьютерной томографии. Предложен модифицированный вариант альвеолярного индекса (AI_m) для оценки изменения высоты альвеолярного гребня при отсутствии зуба и наличии имплантата. Установлено, что отсроченная имплантация характеризуется более благоприятными отдаленными результатами в сравнении с непосредственной имплантацией.

Ключевые слова: дентальная имплантация, конусно-лучевая компьютерная томография, альвеолярный индекс

Для цитирования: Рубникович, С П. Сравнительный анализ состояния периимплантационных тканей после непосредственной и отсроченной имплантации / С. П. Рубникович, Ю. Л. Денисова, Г. В. Богдан // Вес. Нац. акад. навук Беларусі. Сер. мед. навук. – 2024. – Т. 21, № 3. – С. 213–218. https://doi.org/10.29235/1814-6023-2024-21-3-213-218

Introduction. The prevalence of secondary adentia in the Republic of Belarus in patients aged 45 to 64 years is more than 89 % [1]. In this regard, dental implantation is currently becoming highly relevant and is widely used for the rehabilitation of patients with partial or complete secondary jaw adentia.

The choice of immediate and delayed implantation is largely determined by the peculiarities of the local status of the area of the intended implant placement. Thus, as a criterion for the success of dental implantation, the use of an X-ray sign of bone loss less than 1/3 the length of the implant was proposed [2]. In 2007, J. A. Ashuev proposed using the complete overlap of the newly formed bone tissue of the threaded part of the implant as a new criterion for the success of dental implantation [3]. The level of bone resorption relative to the length of the implant (by 1/3, 1/2, more than 1/2) was determined in 2021 by E. E. Olesse to assess the state of implantation [4]. To assess the effectiveness of dental implantation, A. E. Yablokov recommended using the optical density of bone tissue in Hounsfield (HU) units [5–9].

Only isolated studies have been found on this topic without a comparative analysis of the state of peri-implant tissues after immediate and delayed dental implantation.

The aim of the study – to conduct a comparative analysis of the state of peri-implantation tissues after immediate and delayed implantation and to determine the advantages of these techniques to substantiate the choice of treatment method. To achieve the aim of the study, the following tasks were developed:

1. To determine the list of criteria for the effectiveness of dental implantation and to develop a questionnaire for evaluating peri-implantation tissues according to cone beam computed tomography (CBCT).

2. To evaluate the optical density of bone before and after immediate and delayed implantation based on the Hounsfield scale and the C. Mish classification.

3. To determine the alveolar index (AI) before direct implantation.

4. To propose a modified version of the alveolar index (AI_m) to assess changes in the height of the alveolar ridge in the absence of a tooth and the presence of an implant.

5. To compare the results of the studies to justify the choice of the dental implantation method.

Materials and research methods. A comparative analysis of the state of bone tissue in the peri-implantation area after immediate and delayed implantation was carried out according to the results of CBCT in 32 patients with 91 implantations.

Direct implantation was understood as the installation of an implant in the hole of a removed tooth. Under delayed implantation – the installation of an implant, 3 months or more after tooth extraction.

Group A (direct implantation) included 20 patients (6 (30 %) men and 14 (70 %) women) with a mean age of 52.6 ± 11.3 years, who had 30 implants installed. The follow-up period was 10.8 ± 3.5 months.

In group B (delayed implantation), 61 implants were placed in 20 patients (8 (40 %) men and 12 (60 %) women) with a mean age of 50 ± 11.9 years (1 to 7 implants per patient). The duration of follow-up was comparable to group A and amounted to 9.3 ± 2.6 months.

Measurement of bone density before and after implantation, calculation of the value of the alveolar index, the presence of overlap of the newly formed bone tissue of the threaded part of the implant, the degree of bone resorption in the implant area was performed during CBCT using the Planmeca Romexis Viewer 6.0 program on the PLANMECA ProMax 3D device.

To measure bone density before performing delayed implantation, a function built into the program (ellipse) was used to calculate the average bone density in the study area (Fig. 1).

Bone density in Hounsfield units (HU) before direct implantation was measured at five points and the average was calculated: medially in the cervical region, the middle of the root on the medial side, the apex, the middle of the root on the distal side, distally in the cervical region (Fig. 2).

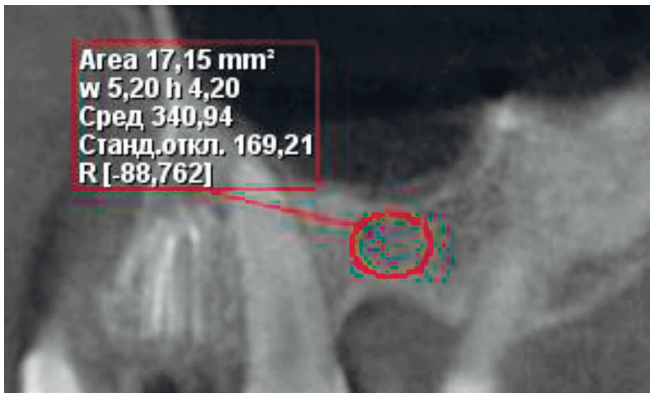


Fig. 1. Section of cone beam computed tomography with bone tissue density measurement

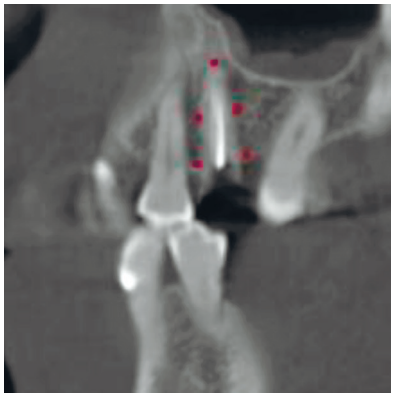


Fig 2. Section of cone beam computed tomography with bone density measurement at five points

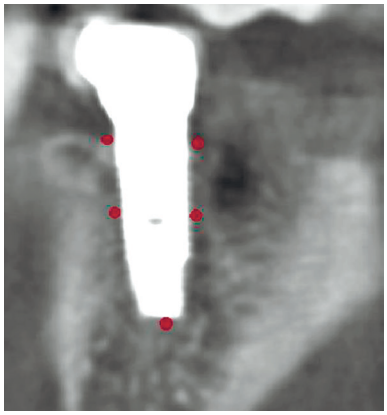


Fig. 3. Cone beam computed tomography slice with bone density measurement after implantation

Bone density after immediate and delayed implantation was assessed in a similar way (Fig. 3).

The measurement of the alveolar index (AI) in the presence of a tooth was carried out according to the method proposed by Yu. L. Denisova [10].

In the absence of a tooth and the presence of an implant, a modified version of the alveolar index (AI_m) was used to assess the change in the height of the alveolar ridge.

The overlap of the newly formed bone tissue of the threaded part of the implant and bone resorption in the implant area were evaluated in the presence or absence of this feature category. The presence of overlap with newly formed bone tissue and the absence of bone resorption were the criteria for inclusion in the study.

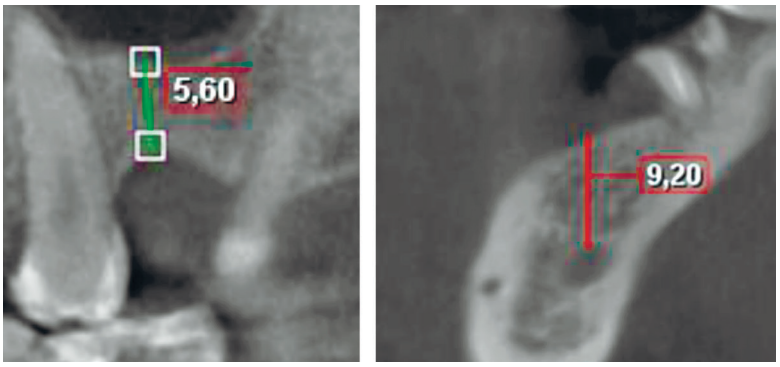
Statistical data processing was carried out using the application software package STATISTICA (version 10-Portable, StatSoft Inc.).

Results and its discussion. To evaluate peri-implantation tissues, a questionnaire was developed that includes a number of criteria for the effectiveness of dental implantation for comparison. The study markers were the values of bone density before and after implantation, the value of the alveolar index, the presence of overlap of the newly formed bone tissue of the threaded part of the implant and the degree of bone resorption in the implant area.

A modified version of the alveolar index (AI_m) is proposed to assess changes in the height of the alveolar ridge in the absence of a tooth and the presence of an implant. To do this, the distance from the alveolar process to morphological structures was measured: on the lower jaw – the channel of the lower jaw, the edge of the body of the lower jaw; on the upper jaw – the bottom of the maxillary sinus (Fig. 4, 5).

$$H = l \cdot KD,$$

where H – the value of the height of the alveolar process; l – the measured distance (from the alveolar process to morphological structures: on the lower jaw – the channel of the lower jaw, the edge of the body of the lower jaw; on the upper jaw – the bottom of the maxillary sinus); KD – the distortion coefficient.



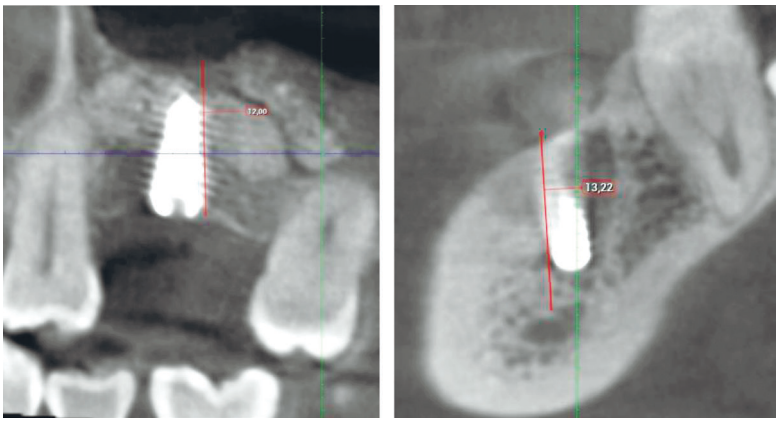
a *b*

Fig. 4. Measured distance (*l*) from the alveolar process to the morphological structures: on the upper jaw – the bottom of the maxillary sinus (*a*); on the lower jaw – the canal of the lower jaw (*b*), the edge of the body of the lower jaw

$$AI_m = \frac{(H_1 - H_2)}{H_1} \cdot 100\ \%,$$

where AI_m – a modified version of the alveolar index; H_1 – the value of the height of the alveolar process at the initial measurement; H_2 – the value of the height of the alveolar process during repeated measurement.

In group A, by the end of the study period, there was a decrease of 16.5 % (92.5 HU) in bone density in the implantation area (from 561.3 (498; 627) HU before implantation to 468.8 (351; 554) HU after) (Fig. 6).



a *b*

Fig. 5. Measured distance (H_2) from the alveolar process to the morphological structures in the presence of an implant: on the upper jaw – the bottom of the maxillary sinus (*a*); on the lower jaw – the canal of the lower jaw (*b*), the edge of the body of the lower jaw

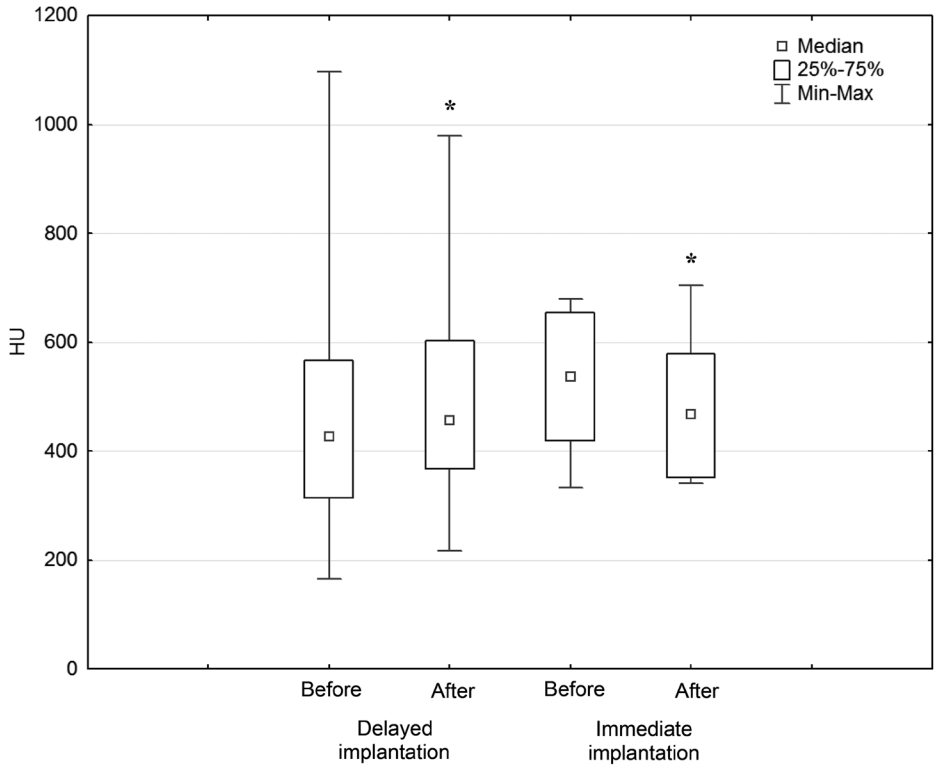


Fig. 6. Dynamics of change in the bone tissue density in the area of implantation in the studied groups * – the presence of statistically significant differences in the average values with respect to the level before implantation ($p \leq 0.05$)

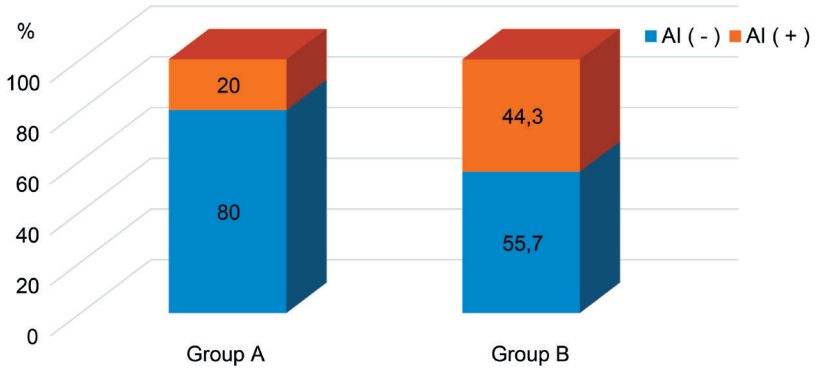


Fig. 7. Positive (+) and negative (–) values of the alveolar index (AI) in the study groups

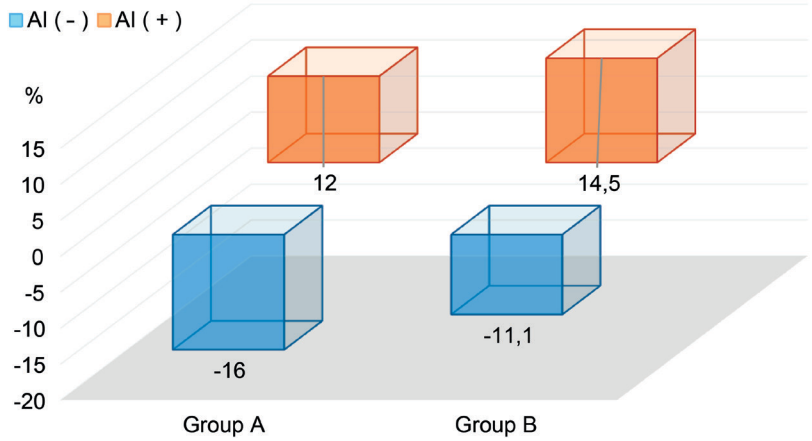


Fig. 8. Alveolar index (AI) in the study groups

Delayed implantation (group B) was characterized by the opposite dynamics of changes with an increase of 7.8 % (35.2 HU) in bone density (from 452.1 (314; 1087) HU initially to 487.3 (216; 979) HU after implantation).

The alveolar index after 10.8 ± 3.5 months with immediate implantation (group A) in 24 (80 %) cases was negative (with an average value of –16.0 ± 8.2 %) and in 6 (20 %) cases) had a positive value (12 ± 3.6 %). Whereas with delayed implantation (group B), after 9.3 ± 2.6 months, a decrease of 24.3 % in the number of negative values of the alveolar index was noted (34 (55.7 %) cases) with an increase in its value by 30.6 % to the level of –11.1 ± 7.1 % (Fig. 7).

There was also a 24.3 % increase in the number of positive index values (27 (44.3 %) cases) with an increase in its index by 2.5 to 14.5 ± 4.1 % (Fig. 8).

In all cases of implantation in the studied groups, the presence of overlap with newly formed bone tissue and the absence of bone resorption were revealed.

Conclusions

1. The developed questionnaire of criteria for the effectiveness of dental implantation can be recommended for use in scientific research for an objective assessment of peri-implantation tissues according to CBCT data.

2. Delayed implantation has no negative effect on bone density and is characterized by a 7.8 % increase in bone density, unlike the results of direct implantation, which is accompanied by a 16.5 % decrease in bone density.

3. The modified version of the alveolar index (AI_m) can be used to objectively assess changes in the height of the alveolar ridge in the absence of a tooth and the presence of an implant.

4. Performing delayed implantation led to a 24.3 % increase in the number of positive values of the alveolar index with an increase in its index by 2.5 % compared with the outcomes of direct implantation, in which negative values (80 %) prevailed with lower numerical values.

5. According to the results of a comparative analysis based on the criteria of CBCT, delayed implantation is generally characterized by more favorable long-term results compared with direct implantation.

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

References

1. Rubnikovich S. P., Denisova Yu. L., Karpuk N. A., Andreeva V. A., Karpuk I. Yu. Prevalence of the main orthopedic dental diseases of Vitebsk. *Stomatolog. Minsk* [Dentist. Minsk], 2019, vol. 2, no. 33, pp. 22–27 (in Russian).

2. Dobrovolskaya O. V., Rubanenko V. V. Efficiency Criteria in dental implantation. *Aktual'ni problemi suchasnoi meditsini: Visnik ukraïns'koï medichnoi stomatologichnoi akademiï* [Actual problems of modern medicine: Bulletin of the Ukrainian Medical Stomatological Academy], 2006, vol. 6, no. 4, pp. 13–15 (in Russian).

3. Ashuev Zh. A., Kulakov A. A., Kapanadze G. D. *X*-ray control of bone forming process under direct intraosseous in experiment. *Biomeditsina* [Biomedicine], 2007, no. 6, pp. 167–169 (in Russian).

4. Olesov E. E., Ivanov A. S., Zaslavskii R. S., Ragulin A. V., Romanov A. S. Clinical and radiological assessment of the condition of implants with fixed structures in the dynamics of 20-years follow-up. *Meditsina ekstremal'nykh situatsii* [Medicine of extreme situations], 2021, vol. 4, no. 23, pp. 29–33 (in Russian).

5. Yablokov A. E. Bone tissue optical density evaluation in dental implantation. *Rossiiskaya stomatologiya* [Russian dentistry], 2019, vol. 12, no. 3, pp. 8–13 (in Russian).

6. Garunov M. M., Sevbitov A. V., Dolgalev A. A., Sirak S. V., Solovyeva O. A., Remizova A. A., Dzgoeva M. G., Rubnikovich S. P. Clinical and radiographic assessment of osteointegration of dental implants after remodeling of the perimplant zone. *Meditsinskii vestnik Severnogo Kavkaza* [Medical news of the North Caucasus], 2019, vol. 14, no. 4, pp. 699–701 (in Russian).

7. Rubnikovich S. P., Khomich I. S., Denisova Yu. L. Morphological changes in the bone tissue around dental implants after low-frequency low-intensity ultrasound applications. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya medytsynskikh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2020, vol. 17, no. 1, pp. 20–27.

8. Rubnikovich S. P., Denisova Yu. L., Vladimirskaya T. E., Andreeva V. A., Kvacheva Z. B., Panasenkova G. Yu., Volotovskii I. D. Regenerative cell technologies for gingival recession treatment. *Sovremennye tekhnologii v meditsine* [Modern technologies in medicine], 2018, vol. 10, no. 4, pp. 94–104 (in Russian).

9. Rubnikovich S., Maizet A., Denisova Yu., Bykova N., Arutyunov A., Kopylova I., Avanesyan R. The effect of magnetophototherapy on morphological changes of tissues of pathologically changed periodontium. *Meditsinskii vestnik Severnogo Kavkaza* [Medical news of the North Caucasus], 2017, vol. 12, no. 3, pp. 303–307.

10. Denisova Yu. L. Alveolar index (AI) – a new method of radioosteometrii in periodontology. *Stomatolog* [Dentist], 2012, no. 3, pp. 24–28 (in Russian).

Information about the authors

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: rubnikovichs@mail.ru

Yuliya L. Denisova – D. Sc. (Med.), Professor. Belarusian State Medical University (83, Dzerzhinski Ave., 220116, Minsk, Republic of Belarus). https://orcid.org/0000-0003-0917-7972. E-mail: denisova-yul@mail.ru

Genrikh V. Bogdan – student. Belarusian State Medical University (83, Dzerzhinski Ave., 220116, Minsk, Republic of Belarus). https://orcid.org/0009-0009-4637-8934. E-mail: bogdangenrikh99@gmail.com

Информация об авторах

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

Денисова Юлия Леонидовна – д-р мед. наук, профессор. Белорусский государственный медицинский университет (пр. Дзержинского, 83, 220116, г. Минск, Республика Беларусь). https://orcid.org/0000-0003-0917-7972. E-mail: denisova-yul@mail.ru

Богдан Генрих Васильевич – студент. Белорусский государственный медицинский университет (пр. Дзержинского, 83, 220116, г. Минск, Республика Беларусь). https://orcid.org/0009-0009-4637-8934. E-mail: bogdangenrikh99@gmail.com

ISSN 1814-6023 (Print)
ISSN 2524-2350 (Online)
УДК 576.311.344.4:577.352.24:615.28:616-002.5/.7:57.085.1 Поступила в редакцию 08.06.2023
https://doi.org/10.29235/1814-6023-2024-21-3-219-230 Received 08.06.2023

Л. Б. Ким, А. Н. Путятина, Г. С. Русских, А. В. Троицкий

Федеральный исследовательский центр фундаментальной и трансляционной медицины, Новосибирск, Российская Федерация

СОСТОЯНИЕ ВНЕКЛЕТОЧНОГО МАТРИКСА СЕЛЕЗЕНКИ ПРИ ВВЕДЕНИИ ЛИПОСОМАЛЬНОЙ ФОРМЫ ДЕКСТРАЗИДА МЫШАМ В ПЕРИОДЕ ХРОНИЧЕСКОГО БЦЖ-ИНДУЦИРОВАННОГО ГРАНУЛЕМАТОЗА

Аннотация. Фиброз паренхиматозных органов является распространенным осложнением туберкулеза. На модели БЦЖ-индуцированного воспаления у мышей продемонстрированы изменения метаболизма внеклеточного матрикса (ВКМ) селезенки при введении липосомальной формы декстразида (ЛФДЗ), содержащей изониазид и окисленный декстран.

Мыши были разделены на 4 группы: 1 – интактные животные; 2 – инфицированные мыши после однократного внутривенного введения вакцины БЦЖ; 3 – животные, которым через 6 мес. после инфицирования в течение 3 мес. вводили раствор ЛФДЗ внутриперитонеально; 4 – мыши, которым вводили то же, что и животным группы 3, но ингаляционно. У мышей группы 2 обнаружены признаки выраженного фиброза селезенки (повышенное содержание гиалуронана, фракций гидроксипролина) при активации гиалуронидаз, матриксных металлопротеиназ (ММП), α2-макроглобулина и повышенном содержании тканевых ингибиторов ММП (ТИМП-1 и ТИМП-2) относительно данных группы 1. В группе 3 отмечены изменения в структуре протеогликанов (увеличение содержания уроновых кислот и галактозы), снижение уровней гиалуронана и свободного гидроксипролина, повышение активности гиалуронидаз. Активность ММП и содержание ТИМП соответствовали показателям в группе 2. В группе 4 также увеличилось содержание уроновых кислот и галактозы в протеогликанах, но отмечалось снижение уровня пептидно-связанного гидроксипролина и более заметным было снижение содержания гиалуронана. Активность всех ферментов, регулирующих метаболизм ВКМ, была снижена относительно показателей в группе 2.

Таким образом, внутриперитонеальное введение ЛФДЗ инфицированным мышам привело к активации гиалуронидаз, изменению структуры протеогликанов, снижению содержания свободного гидроксипролина. Ингаляционное введение ЛФДЗ наряду с изменениями структуры протеогликанов снижало активность ММП, гиалуронидаз, α2-макроглобулина, а также содержание ТИМП-1 и ТИМП-2, пептидно-связанного гидроксипролина. Антифибротический эффект ЛФДЗ проявился в снижении уровня пептидно-связанного гидроксипролина и в более значимом снижении содержания гиалуронана при ингаляционном введении, чем при внутриперитонеальном.

Ключевые слова: липосомальная форма декстразида, туберкулез селезенки, гликозаминогликаны, коллагены, матриксные металлопротеиназы/тканевые ингибиторы металлопротеиназ, α2-макроглобулин, гиалуронидазы

Для цитирования: Состояние внеклеточного матрикса селезенки при введении липосомальной формы декстразида мышам в периоде хронического БЦЖ-индуцированного гранулематоза / Л. Б. Ким [и др.] // Вес. Нац. акад. навук Беларусі. Сер. мед. навук. – 2024. – Т. 21, № 3. – С. 219–230. https://doi.org/10.29235/1814-6023-2024-21-3-219-230

Lena B. Kim, Anna N. Putyatina, Galina S. Russkikh, Aleksandr V. Troitskij

Federal Research Center of Fundamental and Translational Medicine, Novosibirsk, Russian Federation

LIPOSOME-ENCAPSULATED DEXTRAZIDE MODIFIES SPLEEN EXTRACELLULAR MATRIX COMPOSITION IN MICE WITH CHRONIC BCG-INDUCED INFLAMMATION

Abstract. Fibrosis of parenchymal organs is a common complication of tuberculosis. In a model of BCG-induced inflammation in mice, changes in the metabolism of the extracellular matrix (ECM) of the spleen were demonstrated with the introduction of a liposome-encapsulated dextrazide (LEDZ) containing isoniazid and oxidized dextran.

The mice were divided into 4 groups: 1 – intact animals; 2 – infected mice after a single intravenous injection of BCG vaccine. 6 mo after infection, a solution of LEDZ was administered intraperitoneally to mice of group 3 for 3 mo, and inhaled to mice of group 4. Group 2 mice showed the signs of pronounced spleen fibrosis (increased content of hyaluronan, hydroxyproline fractions) with activation of hyaluronidases, matrix metalloproteinases (MMP), α2-macroglobulin and an increased content of tissue inhibitors of MMP (TIMP-1 and TIMP-2) with respect to group 1 data. In group 3, changes in the structure of proteoglycans were noted (an increase in the content of uronic acids and galactose), a decrease in the content of hyaluronan and free hydroxyproline, an increase in the activity of hyaluronidases. The MMP activity and the TIMP content corresponded to the data of group 2. In group 4, the content of uronic acids and galactose in proteoglycans also increased, but peptide-bound hydroxyproline decreased and the hyaluronan content more noticeably decreased. The activity of all enzymes regulating the ECM metabolism reduced with respect to the data of group 2.

Thus, intraperitoneal administration of LEDZ to infected mice led to activating hyaluronidases, changing the structure of proteoglycans, and decreasing the free hydroxyproline content. Inhalation administration of LEDZ, along with changes in the structure of proteoglycans, reduced the activity of MMP, hyaluronidases, α2-macroglobulin, the content of TIMP-1 and TIMP-2, peptide-bound hydroxyproline. The antifibrotic effect of LEDZ with inhalation administration was manifested in a decrease in peptide-bound hydroxyproline and in a more significant decrease in hyaluronan compared with intraperitoneal administration.

Keywords: liposome-encapsulated dextrazide, splenic tuberculosis, glycosaminoglycans, collagens, matrix metalloproteinases/tissue inhibitors of metalloproteinases, α2-macroglobulin, hyaluronidases

For citation: Kim L. B., Putyatina A. N., Russkikh G. S., Troitskij A. V. Liposome-encapsulated dextrazide modifies spleen extracellular matrix composition in mice with chronic BCG-induced inflammation. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya medytsynskikh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2024, vol. 21, no. 3, pp. 219–230 (in Russian). https://doi.org/10.29235/1814-6023-2024-21-3-219-230

Введение. Туберкулез вызывает серьезную обеспокоенность специалистов во всем мире. По данным ВОЗ, из всех инфекционных болезней он остается одной из наиболее частых причин летальных исходов [1]. Большую обеспокоенность вызывает увеличение числа лекарственно-устойчивых форм туберкулеза, требующих разработки новых подходов в лечении [2]. Последние могут быть реализованы путем создания новых лекарственных средств, на разработку и производство которых потребуются десятилетия, либо путем модификации уже существующих препаратов с целью усиления их терапевтических свойств. При этом созданные новые или усовершенствованные известные лекарственные средства должны сочетать в себе высокую антибактериальную активность, низкую токсичность и способность предупреждать развитие осложнений.

Иммунная система является важным фактором, детерминирующим реакцию организма на инфицирование *M. tuberculosis* (*Mtb*). Селезенка – самый крупный лимфоидный орган иммунной системы, функции которого до конца не выяснены. Общеизвестно, что селезенка участвует в лимфопоэзе, выполняет функцию фильтра для инородных тел организма, в том числе бактерий, грибов, простейших, а также обеспечивает разрушение старых и поврежденных клеток крови (эритроцитов, тромбоцитов). Защитная функция селезенки связана с фагоцитозом чужеродных тел, лимфо- и моноцитопоэзом, преобразованием моноцитов в макрофаги. Есть единичные данные, что в селезенке БЦЖ-инфицированных мышей формируются гранулемы и развивается спленомегалия [3], практически отсутствуют данные о качественном и количественном составе внеклеточного матрикса (ВКМ) селезенки.

Актуальность данного исследования обусловлена необходимостью восполнения дефицита знаний о реакции ВКМ селезенки и о выраженности фиброза при туберкулезной инфекции. До последнего времени нет четкого представления об активном участии ВКМ селезенки при развитии туберкулезного воспаления и о характере ремоделирования ВКМ при введении лекарственных препаратов, что диктует необходимость выполнения таких исследований. В сложившейся ситуации актуальным и своевременным представляется решение задачи, нацеленной на оценку влияния созданной в Федеральном исследовательском центре фундаментальной и трансляционной медицины (ФИЦ ФТМ) Российской Федерации противотуберкулезной изониазид-содержащей композиции в липосомальной форме на метаболизм ВКМ селезенки у мышей, инфицированных вакциной БЦЖ (Bacillus Calmette–Guérin). На модели экспериментального туберкулеза у мышей при изучении печени и легких была показана целесообразность применения липосомальной формы декстразида (ЛФДЗ), состоящей из конъюгата изониазида и окисленного декстрана, заключенного в липосомы [4]. Эффект зависел от выраженности фиброза в органах в динамике БЦЖ-индуцированного воспаления, т. е. от периода развития туберкулезного процесса [4, 5]. Несомненный интерес представляет изучение реакции ВКМ селезенки при введении ЛФДЗ инфицированным мышам, особенно в запущенных случаях, когда терапия должна быть направлена не только на возбудителя заболевания, но и на развившиеся фибротические осложнения.

Цель настоящего исследования – изучить влияние введенной в период хронического БЦЖ-индуцированного воспаления противотуберкулезной композиции липосомальной формы декстразида на состояние внеклеточного матрикса селезенки мышей.

Объекты и методы исследования. Исследования проводили на здоровых мышах линии BALB/c (самцы в возрасте 2 мес. массой 18–22 г), которые были приобретены в Государственном

научно-исследовательском центре вирусологии и биотехнологии «Вектор» (Кольцово, Россия). Все животные имели свободный доступ к пище и воде. Уход за животными и эксперименты осуществляли в соответствии с требованиями Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых в экспериментальных и других научных целях, а также с Правилами работы с подопытными животными. Протоколы экспериментов были одобрены Комитетом по биоэтике ФИЦ ФТМ.

БЦЖ-гранулематоз воспроизводили путем однократного введения в ретроорбитальный синус 0,5 мг микробных тел (вакцины БЦЖ, НИЦЭМ им. Н. Ф. Гамалеи Минздрава России) в 0,2 мл NaCl на животное. Мыши случайным образом были разделены на 4 группы (по 5 животных в каждой): группа 1 – интактные мыши (контроль); группа 2 – животные, которым через 6 мес. после инфицирования в течение 3 мес. 2 раза в неделю вводили внутриперитонеально по 50 мкл NaCl; группа 3 – мыши, которым внутриперитонеально вводили раствор ЛФДЗ (конъюгат изониазида и окисленного декстрана (40 кДа), заключенный в липосомы размером 0,20–0,25 мкм), по 50 мкл на животное; группа 4 группы – мыши, которым вводили то же, что и животным группы 3, но ингаляционно. ЛФДЗ распыляли в течение 5 мин в затравочной камере из расчета 50 мкл раствора на животное с помощью небулайзера Comp Air NE-C28-Ru (Omron, Китай).

Через 3 мес. от начала введения ЛФДЗ мышей выводили из эксперимента. Выделяли селезенку мышей и гомогенизировали ее при 20 500 об/мин с помощью гомогенизатора Ultra Turrax T 10 Standart (IKA, Германия) с добавлением охлажденного физиологического раствора (1:10, w/v). К полученному гомогенату добавляли 0,1%-й раствор тритона X-100 (1 : 1, v/v), перемешивали, центрифугировали на центрифуге СМ-50 (Elmi, Латвия) в течение 10 мин при 3 000 об/мин. Супернатант хранили при температуре –70 °С до момента использования.

Для выделения протеогликанов (ПГ) селезенки измельченную ткань обрабатывали 10 объемами раствора 4 М гуанидин-хлорида в 50 мМ буфере ацетата натрия (pH 5,8) в присутствии ингибиторов протеаз (0,01 М ЭДТА, 0,005 М фенилметан сульфонил фторида, 0,1 М 6-аминокапроновой кислоты, 0,005 М солянокислого бензамидина) в течение 24 ч при 4 °С согласно [6]. Далее содержимое пробирок пропускали через нейлоновую ткань, экстракты диализовали против буфера 1 М ацетата натрия с 0,01 М ЭДТА, pH 5,8 (4 °С, 3 ч). Осаждали липиды и белки, после повторного диализа добавляя в раствор 10%-го цетилпиридиния хлорида до насыщения, выделяли ПГ и гликозаминогликаны (ГАГ). Осадок обрабатывали 5 мМ сульфата натрия с 0,05 % цетилпиридиния хлорида и тремя объемами этанола в присутствии 4 % ацетата калия.

Определяли содержание сульфатированных ГАГ (сГАГ), белка, уроновых кислот (УК), галактозы (ГАЛ) по описанным ранее методам [4].

Содержание фракций гидроксипролина (ГОП), маркера коллагена, оценивали согласно описанию в [7].

Измеряли активность гиалуронидаз, α2-макроглобулина (α2-МГ) [4]. Активность матриксных металлопротеиназ (ММП) оценивали с помощью субстрата FS-6 (Sigma-Aldrich Co., Ltd., США) флуориметрическим методом на спектрофлуориметре RF-5301 PC (Shimadzu, Япония). К 80 мкл трис-HCl буфера (pH 7,5), содержащего 0,1 М трис, 0,1 М NaCl, 10 мМ $CaCl_2$, 0,05 % тритон X-100, 0,1 % PEG6000, добавляли 100 мкл 10 мкМ субстрата FS-6, 20 мкл супернатанта селезенки, 20 мкл 10 мМ фенилметан сульфонил фторида. Реакционные смеси инкубировали 30 мин при 37 °С, реакцию останавливали путем добавления в инкубационную смесь охлажденного 50 мкМ ЭДТА. В качестве стандарта использовали 1 мкМ 7-амино-4-метил-кумарин (Sigma-Aldrich Co., Ltd., США).

Содержание гиалуронана (MyBioSource Inc., Германия), тканевых ингибиторов ММП, а именно ТИМП-1 и ТИМП-2 (Thermo Fisher Scientific Inc., США), в супернатанте селезенки измеряли с помощью наборов для ИФА в соответствии с инструкциями производителя. Оптическую плотность оценивали с помощью планшетного спектрофотометра Stat Fax-2100 (Awareness Technology Inc., США). Активность гиалуронидаз, ММП, α2-МГ и содержание гиалуронана, ТИМП пересчитывали на белок.

Для статистической обработки полученных результатов использовали пакет прикладных программ Statistica, версия 10.0 (StatSoft Inc., США). Поскольку в большинстве случаев распределение

признаков в выборках не подчинялось закону нормального распределения, использовали непараметрический метод: учитывали медиану (Me), нижний и верхний квартили (Q_{25}; Q_{75}). Для проверки статистической гипотезы разности значений для двух независимых переменных использовали *U*-критерий Манна–Уитни. Критическим уровнем значимости при проверке статистической гипотезы считали $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение. ***Компоненты ВКМ селезенки при инфицировании Mtb вакцины БЦЖ***. У мышей группы 2 содержание УК, сГАГ было снижено, тогда как уровень гиалуронана был многократно выше, чем в группе 1 (см. таблицу). При этом статистически значимых различий в содержании ГАЛ и белка в ПГ с данными группы 1 не отмечено.

Изменение ВКМ селезенки мышей с БЦЖ-гранулематозом при введении ЛФДЗ

Change in the ECM spleen in mice with BCG granulomatosis with the introduction of LEDZ

Показатель	Группа 1 (контроль)	Группа 2 (NaCl внутрибрюшинно)	Группа 3 (ЛФДЗ внутрибрюшинно)	Группа 4 (ЛФДЗ ингаляционно)	*p*
Гиалуронан, нг/мг белка [5]	4,45 (3,87; 5,34)	178,62[a] (167,82; 235,96)	155,17[ab] (140,83; 164,03)	33,65[abc] (27,93; 53,05)	$p_{1-2} = 0,0005$ $p_{1-3} = 0,0005$ $p_{1-4} = 0,0005$ $p_{2-3} = 0,009$ $p_{2-4} = 0,0005$ $p_{3-4} = 0,0005$
сГАГ, мкг/мг сухой ткани	0,84 (0,77; 0,86)	0,69[a] (0,38; 0,75)	0,81 (0,52; 0,85)	0,79 (0,66; 1,04)	$p_{1-2} = 0,021$
Белок, мкг/мг сухой ткани	2,11 (2,02; 2,13)	2,00 (1,21; 2,33)	2,22 (1,53; 2,37)	2,11 (1,62; 2,67)	–
Уроновые кислоты, мкг/мг сухой ткани	0,13 (0,05; 2,36)	0,01[a] (0,01; 0,04)	0,39[b] (0,37; 0,40)	0,11[bc] (0,08; 0,18)	$p_{1-2} = 0,016$ $p_{2-3} = 0,0005$ $p_{2-4} = 0,009$ $p_{3-4} = 0,0005$
Галактоза, мкг/мг сухой ткани	0,01 (0,01; 0,02)	0,03 (0,01; 0,04)	0,28[ab] (0,17; 0,50)	0,25[ab] (0,16; 0,47)	$p_{1-3} = 0,008$ $p_{1-4} = 0,005$ $p_{2-3} = 0,009$ $p_{2-4} = 0,009$
Свободный ГОП, мкг/мг сухой ткани	4,35 (3,35; 4,44)	52,65[a] (47,55; 68,26)	37,44[ab] (28,43; 47,92)	58,62[ac] (53,68; 72,12)	$p_{1-2} = 0,0005$ $p_{1-3} = 0,0005$ $p_{1-4} = 0,0005$ $p_{2-3} = 0,020$ $p_{3-4} = 0,005$
Пептидно-связанный ГОП, мкг/мг сухой ткани	21,20 (17,53; 27,92)	36,69[a] (25,82; 37,49)	39,31[a] (30,71; 54,17)	15,85[abc] (14,39; 16,99)	$p_{1-2} = 0,026$ $p_{1-3} = 0,016$ $p_{1-4} = 0,028$ $p_{2-4} = 0,001$ $p_{3-4} = 0,001$
Белково-связанный ГОП, мкг/мг сухой ткани [5]	7,26 (4,11; 9,22)	76,29[a] (63,59; 87,02)	56,78[a] (53,51; 81,91)	64,01[a] (52,74; 78,29)	$p_{1-2} = 0,0005$ $p_{1-3} = 0,0005$ $p_{1-4} = 0,0005$
Активность гиалуронидаз, нМ NAG/мн/мг белка [5]	0,03 (0,03; 0,04)	1,16[a] (0,54; 1,31)	4,02[ab] (3,86; 5,32)	0,21[abc] (0,14; 0,43)	$p_{1-2} = 0,0008$ $p_{1-3} = 0,0005$ $p_{1-4} = 0,008$ $p_{2-3} = 0,0005$ $p_{2-4} = 0,008$ $p_{3-4} = 0,0005$
Активность α2-макроглобулина, ИЕ/мг белка [5]	0,007 (0,005; 0,010)	0,12[a] (0,11; 0,26)	0,15[a] (0,12; 0,17)	0,04[abc] (0,03; 0,05)	$p_{1-2} = 0,002$ $p_{1-3} = 0,0005$ $p_{1-4} = 0,0005$ $p_{2-4} = 0,008$ $p_{3-4} = 0,0005$

Окончание таблицы

Показатель	Группа 1 (контроль)	Группа 2 (NaCl внутри-перитонеально)	Группа 3 (ЛФДЗ внутри-перитонеально)	Группа 4 (ЛФДЗ ингаляционно)	*p*
Активность ММП, мкМ МСА/мин·мг белка [5]	0,54 (0,37; 0,61)	18,67[a] (17,60; 28,90)	25,04[a] (18,66; 31,67)	6,08[abc] (4,97; 8,19)	$p_{1-2} = 0{,}0005$ $p_{1-3} = 0{,}0005$ $p_{1-4} = 0{,}0005$ $p_{2-4} = 0{,}0005$ $p_{3-4} = 0{,}001$
ТИМП-1, нг/мг белка [5]	0,12 (0,10; 0,16)	2,64[a] (1,77; 5,02)	3,97[a] (2,90; 5,31)	0,85[abc] (0,80; 1,23)	$p_{1-2} = 0{,}004$ $p_{1-3} = 0{,}0005$ $p_{1-4} = 0{,}0005$ $p_{2-4} = 0{,}009$ $p_{3-4} = 0{,}002$
ТИМП-2, нг/мг белка [5]	0,04 (0,04; 0,06)	0,89[a] (0,63; 1,61)	1,24[a] (1,10; 2,02)	0,34[abc] (0,26; 0,46)	$p_{1-2} = 0{,}002$ $p_{1-3} = 0{,}0005$ $p_{1-4} = 0{,}0005$ $p_{2-4} = 0{,}009$ $p_{3-4} = 0{,}002$

П р и м е ч а н и е. Статистически значимые различия показателей: a – между контролем и группами 2, 3, 4; b – между группой «БЦЖ + NaCl» и группами 3, 4; c – при внутриперитонеальным и ингаляционным способах введения ЛФДЗ. ЛФДЗ – липосомальная форма декстразида, сГАГ – сульфатированные гликозаминогликаны, ГОП – гидроксипролин, ММП – матриксные металлопротеиназы, ТИМП – тканевой ингибитор металлопротеиназ.

В группе 2 повышено содержание всех фракций ГОП (свободный ГОП, пептидно-связанный ГОП и белково-связанный ГОП) относительно группы 1, что отражает высокий уровень обмена коллагенов и образование депозитов коллагена (см. таблицу).

Отмеченные изменения в содержании компонентов ПГ и фракций ГОП селезенки при инфицировании могут быть результатом изменений в системе локальной регуляции обмена ВКМ. Действительно, активность гиалуронидаз и ММП в группе 2 оказалась выше, чем в группе 1 (см. таблицу). Содержание ТИМП-1, ТИМП-2 и активность неспецифического ингибитора протеаз (α2-МГ) в группе 2 также были выше, чем в группе 1.

Таким образом, через 6 мес. после внутривенного введения вакцины БЦЖ в ВКМ селезенки мышей отмечены признаки усиления обмена коллагенов и перераспределение ГАГ в сторону несульфатированных ГАГ – гиалуронана. Эти процессы обусловлены выраженной активацией ферментов (гиалуронидаз, α2-МГ и ММП), а также увеличением содержания ТИМП-1 и ТИМП-2. Важно отметить, что активность деградирующих ферментов в целом увеличилась в большей степени, чем содержание ингибирующих ферментов.

В лимфоидных органах компоненты ВКМ, такие как коллагены и гликопротеины, продуцируются мезенхимальными клетками, главным образом фибробластами [8]. ВКМ селезенки представляет собой рыхлую соединительную ткань, состоящую из коллагенов (I, II, III, V и XI типа), сГАГ, таких как хондроитин сульфат, дерматан сульфат и кератан сульфат, которые в соединении с коровым белком образуют ПГ, а также некоторых гликопротеинов, таких как тенасцин-с, фибронектин и витронектин [9]. Базальные мембраны, выполняющие функцию разделения компартментов, представлены коллагеном IV типа и постоянными его спутниками – гепарансульфатными ПГ (перлекан и нидогены). Взаимодействие между компонентами ВКМ и спленоцитами придает селезенке эластичность и прочность при растяжении [9].

Результаты настоящего исследования показали активное участие ВКМ в патогенезе БЦЖ-индуцированного гранулематоза. Ремоделирование ВКМ через 6 мес. после инфицирования проявилось усилением обмена коллагенов (увеличение содержания всех фракций ГОП), увеличением уровня гиалуронана, но снижением содержания УК в ПГ. Выявленные изменения в соотношении ГАГ можно рассматривать как результат непосредственного взаимодействия *Mtb* с клетками хозяина, поскольку известно, что взаимодействие между патогеном и клетками хозяина через ГАГ является первым и важным шагом в адгезии, колонизации, инвазии, передаче, интернализациии, уклонении от защитных механизмов хозяина [10].

При инфицировании происходит каскад биохимических преобразований ВКМ, приводящих к дезорганизации ВКМ и фиброзированию селезенки из-за повышенного содержания профибротических фракций ГОП и гиалуронана. Эти результаты служат подтверждением того, что общий состав ВКМ резко меняется при прогрессировании фиброза [11], в данном случае вызванного *Mtb*. При этом нарушаются взаимосвязи и взаимовлияние не только между отдельными компонентами ВКМ [12], но и между компонентами ВКМ и близлежащими клетками, что приводит к формированию патологического ремоделирования ВКМ с потерей компартментализации селезенки, в результате чего изменяются функции иммунных клеток и органа в целом. Примером может служить снижение фагоцитозной активности макрофагов селезенки человека и снижение секреции ими интерлейкина-10 при инфицировании живыми и термически убитыми *Mtb* H37Rv [13]. Недавно было продемонстрировано изменение фенотипа макрофагов при туберкулезе [14]. Авторы показали, что при инфицировании *Mtb* активированные макрофаги приобретали фенотип, аналогичный фенотипу М1, с повышенной продукцией провоспалительных молекул, активацией гликолиза и пентозофосфатного пути для реализации своих биоэнергетических и метаболических потребностей. В этих макрофагах окислительное фосфорилирование и окисление жирных кислот было подавлено. При этом макрофаги типа М2 обладали противовоспалительным действием и обеспечивали свой энергетический обмен за счет окислительного фосфорилирования и окисления жирных кислот. Оказалось, что аналогичные метаболические адаптации при *Mtb*-инфекции происходят и в других фагоцитах, включая дендритные клетки и нейтрофилы. Более подробно взаимодействие между компонентами ВКМ и иммунными клетками на внедрение микробных патогенов представлено в обзоре [15].

В настоящее время накоплено достаточно много экспериментальных данных, актуализирующих этиологическую роль гипоксии в развитии фиброза [16], которая реализуется через кислородчувствительный комплекс гипоксия–индуцибельный фактор (HIF-1) [17]. Последний не только активирует транскрипцию индуцируемых гипоксией генов, таких как эритропоэтин, васкулоэндотелиальный фактор роста, гемоксигеназа-1 и др. [18], но и запускает экспрессию генов, участвующих в фиброгенезе: коллагенов I и IV типа, фибронектина [16]. Показано, что развивающаяся у человека при туберкулезе легких гипоксия индуцирует повышенную экспрессию HIF-1α эпителиоидными макрофагами и многоядерными гигантскими клетками, не оказывая влияния на репликацию *Mtb* [19]. При этом HIF-1α и нуклеарный фактор kB обеспечивают повышенную активность ММП-1. Не исключено, что отмеченная активация ММП и увеличение профибротических фракций ГОП и свободного ГОП в селезенке мышей группы 2 обусловлены развивающейся гипоксией тканей. Это предположение подкрепляется данными о разной степени стабилизации (в зависимости от выраженности фиброза) HIF-1α и HIF-2α в клетках пациентов с туберкулезом [20].

Приведенные выше изменения в ВКМ селезенки инфицированных мышей (см. таблицу) происходили при активации системы регуляции метаболизма ВКМ (увеличение активности ММП, гиалуронидаз и α2-МГ, содержания ТИМП-1 и ТИМП-2), т. е. инфицирование *Mtb* активирует не только ферменты, деградирующие компоненты ВКМ (ММП и гиалуронидазы), но и ингибиторы этих ферментов и других протеаз (ТИМП-1, ТИМП-2 и α2-МГ). О повышении уровня α2-МГ при туберкулезной инфекции сообщалось ранее [21].

Принято считать, что ММП являются основными ферментами, ответственными за синтез и деградацию компонентов ВКМ. Однако из обзора [12] следует, что субстратом для них могут быть и белки нематриксного происхождения: хемокины, цитокины, рецепторы. Многообразие субстратов существенно расширяет влияние ММП на развитие и исход воспалительных и иммунных процессов, а значит, и на эффективность проводимой терапии.

Таким образом, через 6 мес. после инфицирования мышей вакциной БЦЖ в селезенке мышей наблюдали изменения в ВКМ, которые выражались в ускорении обмена коллагенов с фиброзированием органа, а также в изменении структуры ПГ, увеличении уровня гиалуронана. Эти изменения связаны с активацией деградирующих ферментов (ММП, гиалуронидазы) и увеличением содержания и активности ингибирующих ферментов (ТИМП-1, ТИМП-2 и α2-МГ).

Компоненты ВКМ селезенки при введении ЛФДЗ мышам с БЦЖ-гранулематозом. При патологических состояниях терапевтического эффекта можно добиться, воздействуя на конкретные

компоненты ВКМ, которые участвуют в патогенезе заболевания [22]. Поскольку ранее было показано, что через 3 мес. после инфицирования изменения ВКМ печени и легких мышей зависели от способа введения ЛФДЗ [4], осуществляли внутриперитонеальное и ингаляционное введение композиции.

В группе 3 содержание УК и ГАЛ было выше в 39 в 9 раз соответственно, а в группе 4 – в 11 и 8 раз выше, чем в группе 2 (см. таблицу). Содержание сГАГ и белка в группах 3 и 4 не отличалось от аналогичных показателей в группе 2. Содержание гиалуронана (см. таблицу) в обеих группах было снижено по сравнению с данными группы 2, но большее (5-кратное) снижение наблюдалось в группе 4.

В группе 3 содержание свободного ГОП по сравнению с данными группы 2 уменьшилось в 1,4 раза (см. таблицу), но содержание пептидно-связанного и белково-связанного ГОП сохранялось на уровне показателей группы 2, что свидетельствует о снижении интенсивности деградации коллагенов при условии сохранности уровня синтетических процессов, как у инфицированных мышей.

В группе 4 содержание свободного и белково-связанного ГОП не отличалось от соответствующих данных группы 2 (см. таблицу), тогда как содержание пептидно-связанного ГОП было снижено в 2,3 раза. Такое соотношение фракций ГОП свидетельствует о сохраняющейся высокой интенсивности деградации коллагенов (как при инфицировании) и о частичном ограничении их синтеза при ингаляционном введении ЛФДЗ.

В группе 3 введение ЛФДЗ не повлияло на активность ММП, α2-МГ, содержание ТИМП-1 и ТИМП-2: эти показатели оставались на уровне значений в группе 2 (табл. 1). В группе 4 активность ММП и α2-МГ по сравнению с данными группы 2 оказалась сниженной в 3 раза, содержание ТИМП-1 – в 3,1, ТИМП-2 – в 2,6 раза (см. таблицу). В группе 3 активность гиалуронидаз была существенно увеличена, тогда как в группе 4 она была ниже, чем в группе 2.

Разница между показателями групп 3 и 4 выявлена только в содержании гиалуронана и УК: они были ниже после ингаляционного введения ЛФДЗ, чем после внутриперитонеального. Кроме того, определено высокое содержание свободного ГОП и низкое содержание пептидно-связанного ГОП в группе 4 по сравнению с данными группы 3 (см. таблицу), что свидетельствует о преобладании деградации коллагенов и меньшем их синтезе при ингаляционном введении, чем при внутриперитонеальном. В группе 3 активность гиалуронидаз была существенно выше, чем в группе 4.

Таким образом, введение ЛФДЗ инфицированным мышам привело к существенным изменениям в метаболизме ВКМ селезенки, характер которых зависел от способа введения композиции. Внутриперитонеальное введение ЛФДЗ приводило к снижению интенсивности деградации коллагенов и не влияло на их продукцию, оставаясь на уровне показателей группы БЦЖ. Значимые изменения в структуре ПГ проявились в повышении уровней УК и ГАЛ при отсутствии различий в содержании сГАГ и белка. Отмечено снижение уровня гиалуронана при обоих способах введения, однако при ингаляционном введении ЛФДЗ его снижение было более значимым. Как при внутриперитонеальном, так и при ингаляционном введении ЛФДЗ увеличивалось содержание УК и ГАЛ при отсутствии различий в содержании сГАГ и белка.

Внутриперитонеальное введение ЛФДЗ не вызывало значимых изменений в активности ММП, α2-МГ и в содержании ингибиторов ММП – ТИМП-1, ТИМП-2 у инфицированных мышей. Исключение составила активность гиалуронидаз, которая при внутриперитонеальном введении ЛФДЗ увеличилась, но при ингаляционном введении оказалась ниже, чем в группе БЦЖ. Ингаляционное введение ЛФДЗ приводило к снижению активности ММП и содержания ингибиторов протеаз, но тем не менее эти показатели оставались выше, чем в группе контроля.

Введение ЛФДЗ через 6 мес. после инфицирования мышей *Mtb* в течение 3 мес. привело к изменению ВКМ, ремоделированного патогеном (вариант патологического ремоделирования). При этом характер изменений зависел от способа доставки композиции (см. таблицу). Ранее было показано, что включение противотуберкулезного средства рифампицина и изониазида в липосомы (для придания им корпускулярных свойств) наряду с липофильностью увеличивает тропность средства к лимфоидной ткани [23]. Лимфотропность регламентировалась способом введения. При ингаляционном введении липосомальной формы наиболее полно реализовались основные

положительные свойства липосом (депонирование, пролонгация, протекция к инактивирующим агентам). Ультразвуковая ингаляционная терапия с использованием лекарственной формы комплекса химиопрепаратов, заключенных в фосфатидилхолиновые липосомы, продемонстрировала высокую эффективность в лечении экспериментального туберкулеза легких у мышей [23].

Терапевтический эффект от использования ЛФДЗ, как мы предполагали, будет определяться действием его компонентов. Основу композиции составляет изониазид – традиционно используемое противотуберкулезное средство первого ряда, которое характеризуется малой бактериостатической активностью в отношении внутриклеточно персистирующих форм *Mtb* и проявляет высокий профиброгенный эффект [24]. Антибактериальное действие конъюгата изониазида с окисленным декстраном (60 кДа) усиливалось как в отношении *Mtb*, циркулирующих в крови, так и в отношении *Mtb*, персистирующих в макрофагах гранулем, отличающихся пролонгированностью действия (до 7 сут) и низкой общей токсичностью [24]. Заключение декстразида в липосомы (0,20–0,25 мкм) обеспечивает снижение гепатотоксичности, но при этом увеличивает время действия из-за корпускулярности ЛФДЗ на микобактерии в фагосомах и фаголизосомах макрофагов. Также было показано, что использование липосомальных форм лекарственных препаратов обеспечивает более длительное удержание средства в целевом месте [25].

Следует отметить, что препараты на основе липосом широко используются в диагностике и лечении различных патологических состояний [26]. Особенностью настоящей работы является использование противотуберкулезной композиции декстразида в липосомальной форме в периоде хронического БЦЖ-индуцированного воспаления у мышей, которое характеризуется наличием выраженных фибротических осложнений.

Ранее нами было показано, что ингаляционное введение ЛФДЗ на более раннем сроке после инфицирования мышей *Mtb* в составе вакцины БЦЖ (через 3 мес. после инфицирования) в течение 2 мес. приводило к снижению фибротических проявлений в печени и легких [4]. При этом антифибротический эффект реализовался в органах разными механизмами и в разной степени. В легких это достигалось за счет увеличения антифибротической фракции ГОП и снижения профибротических фракций ГОП, что свидетельствует об усилении деградации коллагенов и снижении их синтеза относительно инфицированных мышей. В печени изменения были менее значимы и выражались в снижении как антифибротической фракции ГОП, так и его профибротических фракций. Внутриперитонеальное введение ЛФДЗ не вызвало значимых различий в содержании фракций ГОП в обоих органах.

Выбранный период (3 мес. после инфицирования) был условно обозначен нами как период стабилизации, так как содержание ГОП было снижено по сравнению с таковым в 1 и 6 мес., а фибропластическая активность фибробластов в интерстиции легких – по сравнению с их активностью в 6 мес. [27]. В настоящем исследовании ЛФДЗ вводили через 6 мес. после инфицирования в течение 3 мес. – в период хронического БЦЖ-гранулематоза, когда максимально высокими оказались содержание ГОП, фибропластическая активность фибробластов и их численность в гранулемах и интерстициальной ткани легких. Видимо, такая же динамика содержания ГОП и фибропластической активности фибробластов была и в селезенке.

В представленной работе при ингаляционном способе введения ЛФДЗ через 6 мес. после инфицирования мышей был снижен показатель синтеза коллагенов при высоком уровне показателя деградации белка (соответствующее уровню группы БЦЖ) при снижении активности ММП и гиалуронидаз относительно аналогичных показателей у мышей с БЦЖ-воспалением (см. таблицу). Поскольку ингибирование ММП рассматривается как реальная цель в качестве дополнительной терапии для ограничения иммунопатологии при туберкулезе [28], следует с огромной осторожностью говорить о возможности достижения этой цели, так как приведенные показатели после 3 мес. введения ЛФДЗ не достигли значений группы контроля. Сниженными, но не достигшими значений группы контроля оказались и другие показатели (ТИМП-1, ТИМП-2 и α2-МГ), что свидетельствует лишь о подавлении активности воспалительно-деструктивных процессов.

Вопрос об ингибировании ММП как цели химиотерапии туберкулеза можно отнести к дискуссионному. Здесь не учитывается, что субстратами для ММП являются не только компоненты ВКМ, но, как отмечалось выше [12], и хемокины, цитокины, факторы роста, рецепторы и другие

молекулы, которые определяют развитие и исход не только воспалительных и иммунных, но и многих других процессов. Многосторонняя связь ММП с другими биологически активными соединениями, участвующими в регуляции обмена ВКМ, в некоторой степени объясняет неудачи с использованием ингибиторов ММП в качестве потенциальных инструментов в терапии ряда заболеваний [29].

Содержание и активность ММП могут регулироваться ТИМП, в связи с чем соотношение ММП/ТИМП часто используют для определения степени деградации компонентов ВКМ и ремоделирования тканей [30]. В нашем исследовании это соотношение было минимальным (3,4) в группе контроля и повышенным в опытных группах (в группе 2 – 5,3, в группе 3 – 4,8, группе 4 – 5,1).

Таким образом, введение ЛФДЗ мышам в течение 3 мес. через 6 мес. после их инфицирования *Mtb* вакцины БЦЖ приводило к изменению метаболизма ВКМ селезенки. Внутриперитонеальное введение ЛФДЗ вызывало снижение интенсивности деградации коллагенов, но не оказывало влияния на их продукцию, которая оставалась на уровне группы БЦЖ. Ингаляционное введение ЛФДЗ поддерживало на высоком уровне интенсивность деградации коллагенов, соответствующую уровню группы БЦЖ, но снижало содержание профибротической фракции ГОП и активность всех ферментов. Независимо от способа введения ЛФДЗ в селезенке мышей снижалось содержание гиалуронана (особенно при ингаляционном введении), увеличивалось содержание УК и ГАЛ в ПГ, при этом уровни сГАГ и белка оставались на уровне группы БЦЖ.

Введение ЛФДЗ инфицированным мышам привело к существенным изменениям в метаболизме ВКМ селезенки, характер которых был связан со способом введения композиции.

Заключение. На модели БЦЖ-индуцированного туберкулезного воспаления у мышей продемонстрированы изменения метаболизма ВКМ селезенки. Через 6 мес. после инфицирования (период хронического БЦЖ-индуцированного воспаления) в селезенке отмечено увеличение содержания ГАЛ, гиалуронана, но снижение уровней УК, сГАГ в ПГ, а также усиление обмена коллагенов с развитием фиброза, активация деградирующих ферментов (ММП и гиалуронидазы), увеличение содержания специфических тканевых ингибиторов ММП (ТИМП-1 и ТИМП-2) и активности неспецифического ингибитора протеаз (α2-МГ).

Инфицированным мышам в течение 3 мес. двумя способами вводили противотуберкулезную композицию – ЛФДЗ. После внутриперитонеального введения ЛФДЗ снижалось содержание свободного ГОП, при этом активность ММП и ингибиторы протеаз оставались на уровне показателей в группе инфицированных мышей. После ингаляционного введения ЛФДЗ наблюдали снижение содержания пептидно-связанного ГОП, активности ферментов, регулирующих обмен ВКМ (снижение активности ММП, гиалуронидаз и α2-МГ, содержания ТИМП-1 и ТИМП-2). Независимо от способа введения ЛФДЗ увеличивалось содержание УК и ГАЛ в ПГ, но снижался уровень гиалуронана, особенно при ингаляционном введении, что свидетельствовало о снижении выраженности фиброза селезенки.

Сравнение эффектов двух способов введения ЛФДЗ продемонстрировало значимое влияние композиции при ингаляционном способе, которое проявилось в большем снижении содержания гиалуронана, УК, усилении деградации коллагенов при снижении их синтеза, ингибировании активности ММП, гиалуронидаз, α2-МГ и снижении уровня ТИМП. Эти различия свидетельствуют об уменьшении выраженности фиброза, активности воспалительно-деструктивных процессов и гиалуронан-связанных реакций ВКМ при ингаляционном введении ЛФДЗ по сравнению с внутриперитонеальным.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Благодарности. Работа выполнена в рамках государственного задания № 122032300155-4 с использованием оборудования ЦКП «Современные оптические системы» ФИЦ ФТМ.

Авторы выражают искреннюю благодарность академику РАН В. А. Шкурупию за конструктивные замечания при подготовке рукописи.

Acknowledgements. This work was supported within the framework of the state assignment No. 122032300155-4 using the equipment of the Center for Collective Use “Modern Optical Systems” FRC FTM.

The authors express their sincere gratitude to Academician of the Russian Academy of Sciences V. A. Shkurupiy for constructive comments during the preparation of the manuscript.

Список использованных источников

1. Global tuberculosis report 2020 / World Health Organization. – Geneva: World Health Organization, 2020. – 232 p.

2. Opportunities for overcoming *Mycobacterium tuberculosis* drug resistance: emerging mycobacterial targets and host-directed therapy / E. Torfs [et al.] // Int. J. Mol. Sci. – 2019. – Vol. 20, N 12. – Art. 2868. https://doi.org/10.3390/ijms20122868

3. Михайлова, Л. П. Сравнительная характеристика цитокинового профиля и морфологических проявлений гранулематозного воспаления у мышей BALB/c и C57BL/6 / Л. П. Михайлова, О. В. Макарова // Иммунология. – 2005. – № 2. – С. 95–98.

4. Antifibrotics effect of liposome-encapsulated composition of oxidized dextran and isonicotinic acid hydrazide in mice with BCG-induced granulomatosis depends on administration route / L. B. Kim [et al.] // Bull. Exp. Biol. Med. – 2020. – Vol. 169, N 1. – P. 71–76. https://doi.org/10.1007/s10517-020-04827-4

5. Ким, Л. Б. Роль перлекана в ремоделировании внеклеточного матрикса печени, легких и селезенки мышей после введения вакцины БЦЖ и липосомальной формы декстразида / Л. Б. Ким, А. Н. Путятина, Г. С. Русских // Эксперим. и клин. гастроэнтерология. – 2022. – № 11. – С. 204–210.

6. Русова, Т. В. Биохимические изменения протеогликанов суставного хряща при прогрессирующем остеоартрозе / Т. В. Русова, В. С. Баитов // Бюл. Сиб. отд-ния Рос. акад. мед. наук. – 2008. – Т. 28, № 2. – С. 25–29.

7. Путятина, А. Н. Способ определения фракций гидроксипролина в биологическом материале: пат. Ru 2735375 C1 / А. Н. Путятина, Г. С. Русских, Л. Б. Ким. – Опубл. 30.10.2020.

8. Morgado, F. N. Infectious diseases and the lymphoid extracellular matrix remodeling: a focus on conduit system / F. N. Morgado, A. V. A. da Silva, R. Porrozzi // Cells. – 2020. – Vol. 9, N 3. – Art. 725. https://doi.org/10.3390/cells9030725

9. The extracellular matrix of the spleen as a potential organizer of immune cell compartments / Z. Lokmic [et al.] // Semin. Immunol. – 2008. – Vol. 20, N 1. – P. 4–13. https://doi.org/10.1016/j.smim.2007.12.009

10. Glycosaminoglycans in infectious disease / E. Kamhi [et al.] // Biol. Rev. Camb. Philos. Soc. – 2013. – Vol. 88, N 4. – P. 928–943. https://doi.org/10.1111/brv.12034

11. The good and the bad collagens of fibrosis – Their role in signaling and organ function / M. A. Karsdal [et al.] // Adv. Drug Deliv. Rev. – 2017. – Vol. 121. – P. 43–56. https://doi.org/10.1016/j.addr.2017.07.014

12. Tocchi, A. Functional interactions between matrix metalloproteinases and glycosaminoglycans / A. Tocchi, W. C. Parks // FEBS J. – 2013. – Vol. 280, N 10. – P. 2332–2341. https://doi.org/10.1111/febs.12198

13. Human splenic macrophages as a model for *in vitro* infection with *Mycobacterium tuberculosis* / J. Henao [et al.] // Tuberculosis (Edinb.). – 2007. – Vol. 87, N 6. – P. 509–517. https://doi.org/10.1016/j.tube.2007.07.002

14. Immunometabolism of phagocytes during *Mycobacterium tuberculosis* infection / R. Kumar [et al.] // Front Mol. Biosci. – 2019. – Vol. 6. – Art. 105. https://doi.org/10.3389/fmolb.2019.00105

15. Tomlin, H. A complex interplay between the extracellular matrix and the innate immune response to microbial pathogens / H. Tomlin, A. M. Piccinini // Immunology. – 2018. – Vol. 155, N 2. – P. 186–201. https://doi.org/10.1111/imm.12972

16. Hypoxia and transforming growth factor-β1 act independently to increase extracellular matrix production by placental fibroblasts / C.-P. Chen [et al.] // J. Clin. Endocrinol. Metab. – 2005. – Vol. 90, N 2. – P. 1083–1090. https://doi.org/10.1210/jc.2004-0803

17. Hypoxia regulates the expression of extracellular matrix associated proteins in equine dermal fibroblasts via HIF1 / K. Deschene [et al.] // J. Dermatol. Sci. – 2012. – Vol. 65, N 1. – P. 12–18. https://doi.org/10.1016/j.jdermsci.2011.09.006

18. Structural and functional analysis of hypoxia-inducible factor 1 / G. L. Semenza [et al.] // Kidney Int. – 1997. – Vol. 51, N 2. – P. 553–555. https://doi.org/10.1038/ki.1997.77

19. Hypoxia and tissue destruction in pulmonary TB / M. Belton [et al.] // Thorax. – 2016. – Vol. 71, N 12. – P. 1145–1153. https://doi.org/10.1136/thoraxjnl-2015-207402

20. *Mycobacterium tuberculosis* load in host cells and the antibacterial activity of alveolar macrophages are linked and differentially regulated in various lung lesions of patients with pulmonary tuberculosis / E. G. Ufimtseva [et al.] // Int. J. Mol. Sci. – 2021. – Vol. 22, N 7. – P. 3452. https://doi.org/10.3390/ijms22073452

21. Altered systemic levels of acute phase proteins in tuberculous lymphadenitis and modulation after treatment / G. R. Kathamuthu [et al.] // PLoS One. – 2020. – Vol. 15, N 5. – P. e0233426. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0233426

22. Ahmad, V. Prospective of extracellular matrix and drug correlations in disease management / V. Ahmad // Asian J. Pharm. Sci. – 2021. – Vol. 16, N 2. – P. 147–160. https://doi.org/10.1016/j.ajps.2020.06.007

23. Способ лечения туберкулеза легких: пат. Ru 2122855 C1 / Ю. Н. Курунов, В. А. Краснов, А. В. Свистельник, Н. Н. Яковченко. – Опубл. 10.12.1998.

24. Конъюгат изониазид-декстран и его применение: пат. Ru 2163120 C1 / В. А. Шкурупий [и др.]. – Опубл. 20.02.2001.

25. Pulmonary delivery of liposomal dry powder inhaler formulation for effective treatment of idiopathic pulmonary fibrosis / S. Chennakesavulu [et al.] // Asian J. Pharm. Sci. – 2018. – Vol. 13, N 1. – P. 91–100. https://doi.org/10.1016/j.ajps.2017.08.005

26. Michel, R. Experimental aspects of colloidal interactions in mixed systems of liposome and inorganic nanoparticle and their applications / R. Michel, M. Gradzielski // Int. J. Mol. Sci. – 2012. – Vol. 13, N 9. – P. 11610–11642. https://doi.org/10.3390/ijms130911610

27. Fibrogenesis in granulomas and lung interstitium in tuberculous inflammation in mice / V. A. Shkurupiy [et al.] // Bull. Exp. Biol. Med. – 2014. – Vol. 156, N 6. – P. 731–735. https://doi.org/10.1007/s10517-014-2435-y

28. Elkington, P. T. Tuberculosis immunopathology: the neglected role of extracellular matrix destruction / P. T. Elkington, J. M. D'Armiento, J. S. Friedland // Sci. Transl. Med. – 2011. – Vol. 3, N 71. – P. 71ps6. https://doi.org/10.1126/scitranslmed.3001847

29. Next generation matrix metalloproteinase inhibitors – novel strategies bring new prospects / M. Levin [et al.] // Biochim. Biophys. Acta – Mol. Cell Res. – 2017. – Vol. 1864, N 11, pt. A. – P. 1927–1939. https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2017.06.009

30. Cui, N. Biochemical and biological attributes of matrix metalloproteinases / N. Cui, M. Hu, R. A. Khalil // Prog. Mol. Biol. Transl. Sci. – 2017. – Vol. 147. – P. 1–73. https://doi.org/10.1016/bs.pmbts.2017.02.005

References

1. *World Health Organization. Global tuberculosis report 2020*. Geneva, World Health Organization Publ., 2020.

2. Torfs E., Piller T., Cos P., Cappoen D. Opportunities for overcoming *Mycobacterium tuberculosis* drug resistance: emerging mycobacterial targets and host-directed therapy. *International Journal of Molecular Sciences*, 2019, vol. 20, no. 12, art. 2868. https://doi.org/10.3390/ijms20122868

3. Mikhailova L. P., Makarova O. V. Comparative descriptions on the cytokines profile and of morphological signs of granulomatous inflammation in BALB/c and C57BL/6 mice. *Immunologiya* [Immunology], 2005, no. 2, pp. 95–98 (in Russian).

4. Kim L. B., Putyatina A. N., Russkikh G. S., Shkurupy V. A. Antifibrotics effect of liposome-encapsulated composition of oxidized dextran and isonicotinic acid hydrazide in mice with BCG-induced granulomatosis depends on administration route. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*, 2020, vol. 169, no. 1, pp. 71–76. https://doi.org/10.1007/s10517-020-04827-4

5. Kim L. B., Putyatina A. N., Russkikh G. S. The role of perlecan in remodeling the extracellular matrix of the liver, lungs and spleen of mice after administration of BCG vaccine and the liposome-encapsulated dextrazide. *Eksperimental'naya i klinicheskaya gastroenterologiya* [Experimental and clinical gastroenterology], 2022, no. 11, pp. 204–210 (in Russian).

6. Rusova T. V., Baitov V. S. Biochemical changes in proteoglycans of articulate cartilage in progressive osteoarthrosis. *Byulleten' Sibirskogo otdeleniya Rossiiskoi akademii meditsinskikh nauk* [Bulletin of the Siberian Branch of the Russian Academy of Medical Sciences], 2008, vol. 28, no. 2, pp. 25–29 (in Russian).

7. Putyatina A. N., Russkikh G. S., Kim L. B. Method of determining fractions of hydroxyproline in biological material: patent. Publ. 30.10.2020 (in Russian).

8. Morgado F. N., da Silva A. V. A., Porrozzi R. Infectious diseases and the lymphoid extracellular matrix remodeling: a focus on conduit system. *Cells*, 2020, vol. 9, no. 3, art. 725. https://doi.org/10.3390/cells9030725

9. Lokmic Z., Lämmermann T., Sixt M., Cardell S., Hallmann R., Sorokin L. The extracellular matrix of the spleen as a potential organizer of immune cell compartments. *Seminars in Immunology*, 2008, vol. 20, no. 1, pp. 4–13. https://doi.org/10.1016/j.smim.2007.12.009

10. Kamhi E., Joo E. J., Dordick J. S., Linhardt R. J. Glycosaminoglycans in infectious disease. *Biological Reviews of the Cambridge Philosophical Society*, 2013, vol. 88, no. 4, pp. 928–943. https://doi.org/10.1111/brv.12034

11. Karsdal M. A., Nielsen S. H., Leeming D. J., Langholm L. L., Nielsen M. J., Manon-Jensen T. [et al.]. The good and the bad collagens of fibrosis – Their role in signaling and organ function. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 2017, vol. 121, pp. 43–56. https://doi.org/10.1016/j.addr.2017.07.014

12. Tocchi A., Parks W. C. Functional interactions between matrix metalloproteinases and glycosaminoglycans. *FEBS Journal*, 2013, vol. 280, no. 10, pp. 2332–2341. https://doi.org/10.1111/febs.12198

13. Henao J., Sánchez D., Muñoz C. H., Mejía N., Arias M. A., García L. F., Barrera L. F. Human splenic macrophages as a model for *in vitro* infection with *Mycobacterium tuberculosis*. *Tuberculosis (Edinb.)*, 2007, vol. 87, no. 6, pp. 509–517. https://doi.org/10.1016/j.tube.2007.07.002

14. Kumar R., Singh P., Kolloli A., Shi L., Bushkin Y., Tyagi S., Subbian S. Immunometabolism of phagocytes during *Mycobacterium tuberculosis* infection. *Frontiers in Molecular Biosciences*, 2019, vol. 6, art. 105. https://doi.org/10.3389/fmolb.2019.00105

15. Tomlin H., Piccinini A. M. A complex interplay between the extracellular matrix and the innate immune response to microbial pathogens. *Immunology*, 2018, vol. 155, no. 2, pp. 186–201. https://doi.org/10.1111/imm.12972

16. Chen C.-P., Yang Y. C., Su T. H., Chen C.-Y., Aplin J. D. Hypoxia and transforming growth factor-β1 act independently to increase extracellular matrix production by placental fibroblasts. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 2005, vol. 90, no. 2, pp. 1083–1090. https://doi.org/10.1210/jc.2004-0803

17. Deschene K., Céleste C., Boerboom D., Theoret C. L. Hypoxia regulates the expression of extracellular matrix associated proteins in equine dermal fibroblasts via HIF1. *Journal of Dermatological Science*, 2012, vol. 65, no. 1, pp. 12–18. https://doi.org/10.1016/j.jdermsci.2011.09.006

18. Semenza G. L., Agani F., Booth G., Forsythe J., Iyer N., Jiang B. H., Leung S., Roe R., Wiener C., Yu A. Structural and functional analysis of hypoxia-inducible factor 1. *Kidney International*, 1997, vol. 51, no. 2, pp. 553–555. https://doi.org/10.1038/ki.1997.77

19. Belton M., Brilha S., Manavaki R., Mauri F., Nijran K., Hong Y. T. [et al.]. Hypoxia and tissue destruction in pulmonary TB. *Thorax*, 2016, vol. 71, no. 12, pp. 1145–1153. https://doi.org/10.1136/thoraxjnl-2015-207402

20. Ufimtseva E. G., Eremeeva N. I., Umpeleva T. V., Vakhrusheva D. V., Skornyakov S. N. *Mycobacterium tuberculosis* load in host cells and the antibacterial activity of alveolar macrophages are linked and differentially regulated in various lung lesions of patients with pulmonary tuberculosis. *International Journal of Molecular Sciences*, 2021, vol. 22, no. 7, p. 3452. https://doi.org/10.3390/ijms22073452

21. Kathamuthu G. R., Moideen K., Kumar N. P., Sridhar R., Baskaran D., Babu S. Altered systemic levels of acute phase proteins in tuberculous lymphadenitis and modulation after treatment. *PLoS One*, 2020, vol. 15, no. 5, p. e0233426. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0233426

22. Ahmad V. Prospective of extracellular matrix and drug correlations in disease management. *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2021, vol. 16, no. 2, pp. 147–160. https://doi.org/10.1016/j.ajps.2020.06.007

23. Kurunov Ju. N., Krasnov V. A., Svistel'nik A. V., Jakovchenko N. N. *Method of treatment of patients with lung tuberculosis: patent*. Publ. 10.12.1998 (in Russian).

24. Shkurupij V. A., Kurunov Ju. N., Pupyshev A. B., Panasenko S. G., Kozjaev M. A., Shorina G. N. *Isoniazid-dextran conjugate and application thereof*: patent. Publ. 20.02.2001 (in Russian).

25. Chennakesavulu S., Mishra A., Sudheer A., Sowmya C., Suryaprakash Reddy C., Bhargav E. Pulmonary delivery of liposomal dry powder inhaler formulation for effective treatment of idiopathic pulmonary fibrosis. *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2018, vol. 13, no. 1, pp. 91–100. https://doi.org/10.1016/ j.ajps.2017.08.005

26. Michel R., Gradzielski M. Experimental aspects of colloidal interactions in mixed systems of liposome and inorganic nanoparticle and their applications. *International Journal of Molecular Sciences*, 2012, vol. 13, no. 9, pp. 11610–11642. https://doi.org/10.3390/ijms130911610

27. Shkurupiy V. A., Kim L. B., Potapova O. V., Cherdantseva L. A., Putyatina A. N., Nikonova I. K. Fibrogenesis in granulomas and lung interstitium in tuberculous inflammation in mice. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*, 2014, vol. 156, no. 6, pp. 731–735. https://doi.org/10.1007/s10517-014-2435-y

28. Elkington P. T., D'Armiento J. M., Friedland J. S. Tuberculosis immunopathology: the neglected role of extracellular matrix destruction. *Science Translational Medicine*, 2011, vol. 3, no. 71, p. 71ps6. https://doi.org/10.1126/scitranslmed.3001847

29. Levin M., Udi Y., Solomonov I., Sagi I. Next generation matrix metalloproteinase inhibitors – novel strategies bring new prospects. *Biochimica et Biophysica Acta – Molecular Cell Research*, 2017, vol. 1864, no. 11, pt. A, pp. 1927–1939. https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2017.06.009

30. Cui N., Hu M., Khalil R. A. Biochemical and biological attributes of matrix metalloproteinases. *Progress in Molecular Biology and Translational Science*, 2017, vol. 147, pp. 1–73. https://doi.org/10.1016/bs.pmbts.2017.02.005

Информация об авторах

Ким Лена Борисовна – д-р мед. наук, гл. науч. сотрудник, руководитель группы. Федеральный исследовательский центр фундаментальной и трансляционной медицины (ул. Тимакова, 2, 630117, г. Новосибирск, Российская Федерация). http://orcid.org/0000-0002-4051-8854. E-mail: lbkim@frcftm.ru

Путятина Анна Николаевна – канд. мед. наук, науч. сотрудник. Федеральный исследовательский центр фундаментальной и трансляционной медицины (ул. Тимакова, 2, 630117, г. Новосибирск, Российская Федерация). https://orcid.org/0000-0001-9599-3049. E-mail: anputyatina@frcftm.ru

Русских Галина Сергеевна – канд. биол. наук, ст. науч. сотрудник. Федеральный исследовательский центр фундаментальной и трансляционной медицины (ул. Тимакова, 2, 630117, г. Новосибирск, Российская Федерация). http://orcid.org/0000-0003-1565-5248. E-mail: russkikh_g@mail.ru

Троицкий Александр Васильевич – канд. мед. наук, вед. науч. сотрудник, руководитель лаборатории. Федеральный исследовательский центр фундаментальной и трансляционной медицины (ул. Тимакова, 2, 630117, г. Новосибирск, Российская Федерация). http://orcid.org/0000-0001-9407-5377. E-mail: pharm2008@yandex.ru

Information about the authors

Lena B. Kim – D. Sc. (Med.), Chief Researcher, Head of the group. Federal Research Center of Fundamental and Translational Medicine (2, Timakov Str., 630117, Novosibirsk, Russian Federation). http://orcid.org/0000-0002-4051-8854. E-mail: lbkim@frcftm.ru

Anna N. Putyatina – Ph. D. (Med.), Researcher. Federal Research Center of Fundamental and Translational Medicine (2, Timakov Str., 630117, Novosibirsk, Russian Federation). https://orcid.org/0000-0001-9599-3049. E-mail: anputyatina@frcftm.ru

Galina S. Russkikh – Ph. D. (Biol.), Senior Researcher. Federal Research Center of Fundamental and Translational Medicine (2, Timakov Str., 630117, Novosibirsk, Russian Federation). http://orcid.org/0000-0003-1565-5248. E-mail: russkikh_g@mail.ru

Aleksandr V. Troitskij – Ph. D. (Med.), Leading Researcher, Head of the Laboratory. Federal Research Center of Fundamental and Translational Medicine (2, Timakov Str., 630117, Novosibirsk, Russian Federation). http://orcid.org/0000-0001-9407-5377. E-mail: pharm2008@yandex.ru

ISSN 1814-6023 (Print)
ISSN 2524-2350 (Online)
УДК 616.367
https://doi.org/10.29235/1814-6023-2024-21-3-231-240

Поступила в редакцию 13.02.2024
Received 13.02.2024

Ю. Н. Орловский[1], Ю. М. Гаин[1], Т. Э. Владимирская[1], Т. М. Юрага[1], О. Н. Чернов[2]

[1]Белорусский государственный медицинский университет, Минск, Республика Беларусь
[2]Городская клиническая больница скорой медицинской помощи г. Минска, Минск, Республика Беларусь

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ СТРИКТУРЫ ХОЛЕДОХОЕЮНОАНАСТОМОЗА

Аннотация. В результате экспериментального моделирования стриктуры холедохоеюноанастомоза на лабораторных животных выявлена роль специфических биомаркеров в установлении причин избыточного рубцевания билиодигестивных соустий. Предлагаемая модель позволяет изучить фазность течения патологического процесса и патогенеза развития стриктуры холедохоеюноанастомоза и наметить пути профилактики ее формирования в клинических условиях.

Ключевые слова: эксперимент, моделирование, стриктура, холедохоеюноанастомоз

Для цитирования: Экспериментальное моделирование стриктуры холедохоеюноанастомоза / Ю. Н. Орловский [и др.] // Вес. Нац. акад. навук Беларусі. Сер. мед. навук. – 2024. – Т. 21, № 3. – С. 231–240. https://doi.org/10.29235/1814-6023-2024-21-3-231-240

Yury N. Arlouski[1], Yury M. Gain[1], Tatuana E. Vladimirskaya[1], Tamara M. Yuraga[1], Oleg N. Chernov[2]

[1]Belarusian State Medical University, Minsk, Republic of Belarus
[2]City Clinical Hospital of Emergency Medical Care of Minsk, Minsk, Republic of Belarus

EXPERIMENTAL MODELING OF THE CHOLEDOCHOJUNOANASTOMOSIS STRICTURE

Abstract. As a result of experimental modeling of the choledochojejunostomy stricture n laboratory animals, the role of specific biomarkers in establishing the causes of excessive scarring of biliodigestive anastomoses was revealed. The proposed model is suitable for studying the phase nature of the pathological process and the pathogenesis of development of the choledochojejunostomy stricture, allowing one to outline ways how to prevent its formation in a clinical setting.

Keywords: experiment, modeling, stricture, choledochojejunostomy

For citation: Arlouski Yu. N., Gain Yu. M., Vladimirskaya T. E., Yuraga T. M., Chernov O. N. Experimental modeling of the choledochojunoanastomosis stricture. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya medytsynskikh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2024, vol. 21, no. 3, pp. 231–240 (in Russian). https://doi.org/10.29235/1814-6023-2024-21-3-231-240

Введение. Доброкачественные стриктуры холедохоеюноанастомозов (ХЕА) встречаются в 10–30 % наблюдений после реконструктивных операций на желчных протоках (ЖП) [1, 2]. По данным ряда авторов, от 62,3 до 75 % таких пациентов подвергаются повторным операциям в связи с развитием стриктур соустий [3, 4]. Данная патология часто осложняется рецидивирующим холангитом, холангиолитиазом, печеночной недостаточностью и циррозом печени. Традиционные повторные реконструктивные операции при стриктурах ХЕА и холангиолитиазе относятся к травматичным вмешательствам с высоким риском рецидива стриктур и снижением качества жизни пациентов [5, 6].

В последнее время все актуальнее становится поиск новых методов морфологического исследования с изучением молекулярных механизмов ремоделирования ЖП. Большое внимание уделяется влиянию отдельных цитокинов на формирование рубцовой ткани в стенке протоков. К таким цитокинам относятся матричная металлопротеиназа 9 (MMP-9), интерлейкин 1 (IL-1), интерлейкин 6 (IL-6), фактор некроза опухолей-альфа (TNF-α), трансформирующий ростовой фактор бета-1 (TGF-β1) и др. [7–10].

Разработка эффективного метода медицинской профилактики стриктур желчевыводящих путей, а также функциональных нарушений и фибротических изменений печени после формирования билиодигестивных анастомозов позволит своевременно применить комплекс корригирующих лечебных мероприятий в клинике, что, в свою очередь, будет способствовать суще-

ственному улучшению отдаленных результатов реконструктивно-восстановительных операций на внепеченочных желчных путях, сокращению временной нетрудоспособности, повышению качества жизни оперированных пациентов. Полученные результаты в совокупности могут внести значимый вклад в решение важной научно-практической задачи по повышению эффективности хирургического лечения пациентов со стриктурами ЖП и билиодигестивных анастомозов, осложненных механической желтухой.

Цель исследования – разработать экспериментальную модель стриктуры холедохоеюноанастомоза у лабораторных животных, максимально приближенную по своим характеристикам к клиническим условиям, на основании оценки функционального состояния печени в условиях формирования патологического процесса с помощью биохимических маркеров в крови и тканях экспериментальных животных и биомаркеров, связанных с повреждением сосудов, воспалением и фиброзом, и изучения их роли в установлении причин развития стриктур желчных протоков.

Материалы и методы исследования. Эксперимент проведен на половозрелых кроликах смешанных пород (в возрасте 6–8 мес.) массой 3–4,5 кг, содержащихся в стационарных условиях вивария (стандартные условия операционного блока на базе научно-исследовательской лаборатории) на полноценном стандартном пищевом рационе и в соответствии с необходимыми требованиями. При выполнении всех манипуляций были соблюдены этические принципы, изложенные в постановлении Межпарламентской ассамблеи государств – участников Содружества Независимых Государств 31.10.2007 № 29-17 «О модельном законе «Об обращении с животными» и в соответствии с Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей» (Страсбург, 1986).

Запланированные оперативные вмешательства у животных осуществляли под внутривенным наркозом с соблюдением всех правил биоэтики. Для обезболивания вводили наркотические вещества (фентанил 0,005 % + дроперидол 0,01 % в соотношении 2 : 1 на 100 г массы тела).

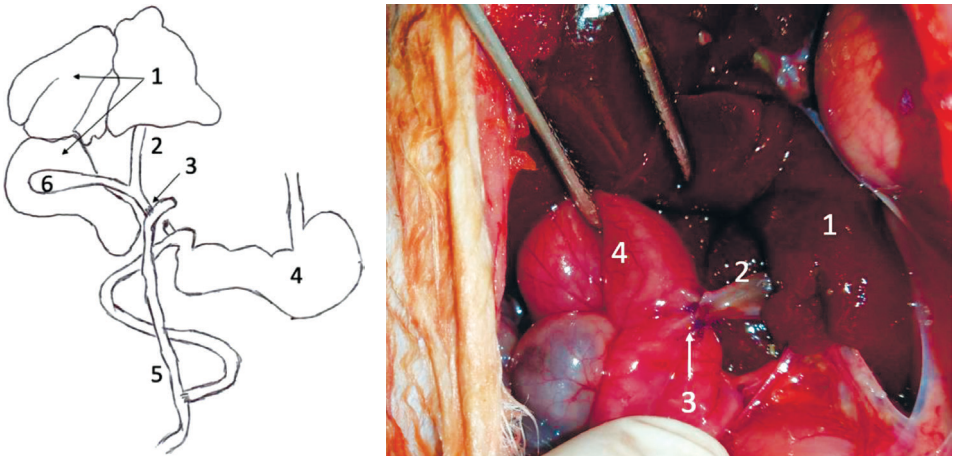
Все животные были разделены на две группы (по 20 особей в каждой). Время наблюдения после моделирования патологии составило 15 и 30 сут. По истечении указанного времени животных выводили из эксперимента в соответствии со стандартами GLP путем введения максимальной дозы 2%-го тиопентала натрия, после чего выполняли забор материала (участок зоны ХЕА с участком печени) для последующего морфологического исследования.

В **группе 1 (контрольной)** под общим наркозом выполняли лапаротомию и визуальную ревизию внутренних органов. Выделяли общий ЖП (ОЖП) на всем протяжении. Дистальную часть ОЖП резецировали. Формировали анастомоз между проксимальной частью ОЖП и петлей тонкой кишки, отключенной по Ру, однорядным узловым швом нитью 6/0–7/0. Далее формировали терминолатеральный энтероэнтероанастомоз по общепринятой методике в 10 см от связки Трейца однорядным непрерывным швом нитью 5/0–6/0. Брюшную стенку послойно ушивали непрерывным швом (рис. 1).

В **группе 2 (основной)** операцию выполняли по той же методике, что и в группе 1, обкалывая зону анастомоза (участок ОЖП и тощей кишки) нитратом калия (селитра). На 15-е и 30-е сутки после операции кроликов выводили из эксперимента и производили забор тканей зоны анастомоза и клеток печени для гистологического и иммуногистохимического исследования, а также сыворотки крови для иммуноферментного анализа (ИФА), выполняли биохимический анализ крови (БАК).

Биохимические исследования. Для выполнения лабораторных исследований забор крови из вен правого уха животных проводился до операции, а затем на 15-е и 30-е сутки. Исследование сыворотки крови в подавляющем большинстве случаев выполняли сразу после ее получения.

Иммуноферментный анализ. В сыворотке крови экспериментальных животных (кролики) методом количественного твердофазного иммуноферментного анализа типа «сэндвич» определяли содержание уровней VEGF, IL-1β, PDGF-AA, IL-6 с помощью коммерческих наборов реагентов фирмы FineTest (Китай). Измерение проводили с помощью фотометра универсального Ф300 («Витязь», РБ), количественное содержание перечисленных показателей в исследуемых образцах рассчитывали по калибровочной кривой, построенной по стандартным концентрациям.



a *b*

Рис. 1. Методика формирования холедохоеюноанастомоза у кроликов: *a* – схема (*1* – печень; *2* – общий желчный проток; *3* – холедохоеюноанастомоз; *4* – желудок; *5* – петля тощей кишки, отключенная по Ру; *6* – желчный пузырь); *b* – интраоперационное фото (*1* – печень; *2* – общий желчный проток; *3* – холедохоеюноанастомоз; *4* – петля тощей кишки, отключенная по Ру)

Fig. 1. Method of forming choledochojejunostomy in rabbits: *a* – scheme (*1* – liver; *2* – common bile duct; *3* – choledochojejunostomy; *4* – stomach; *5* – Roux loop of jejunum; *6* – gallbladder); *b* – intraoperative photo (*1* – liver; *2* – common bile duct; *3* – choledochojejunostomy; *4* – Roux loop of jejunum)

Морфологические исследования. Для проведения гистологического исследования осуществляли забор зоны анастомоза и участка печени. Эти фрагменты фиксировали в 10%-м нейтральном формалине, а затем промывали в проточной воде в течение 24 ч и обезвоживали в спиртах восходящей концентрации (70, 80, 96 %, абсолютный спирт). После этого полученный материал проводили по стандартному протоколу и заливали в парафин. Из готовых парафиновых блоков изготавливали срезы толщиной 3 мкм, которые окрашивали гематоксилином-эозином (обзорная окраска) и трихромом (выявление соединительной ткани (СТ)). Изучение препаратов и изготовление микрофотографий выполняли с помощью светового микроскопа Motic (Китай).

Иммуногистохимические исследования. Для определения уровней экспрессии маркеров клеточной пролиферации использовали поликлональные антитела PAI 1 (Elabscience, Китай), VEGF (R&D systems, США), IL-1b (Thermo Fisher, США), IL-6 (Abcam, США) в соответствии с протоколами производителя. Количественную оценку экспрессии биомолекулярных маркеров выполняли путем анализа цифрового изображения, полученного с помощью микроскопа Leica DMLS с программным изображением (Leica, Германия) и цифровой камерой JVC, применяя алгоритм *positive pixel count* и программу для морфометрии Aperio Image Scope 12.3.3 (Leica, Германия).

Статистический анализ. Для анализа полученных данных использовали статистический метод исследования (пакеты приложений Microsoft Office XP и программы Statistica, версия 10), для проверки числовых значений на нормальность распределения – критерий Шапиро–Уилка. Различия между выборками оценивали, используя *U*-тест Манна–Уитни и тест Краскела–Уоллеса. При распределении, отличном от нормального, данные представляли в виде медианы (Me) и интервала между 25-й и 75-й процентилями. Результаты считали достоверными при $p < 0{,}05$.

Результаты и их обсуждение. У всех животных примерно через неделю наблюдались признаки общей интоксикации: все кролики становились беспокойными, клинически отмечались повышение температуры тела, тахикардия. Макроскопически в группе 2 при выведении животных из эксперимента в брюшной полости наблюдали умеренно выраженный спаечный процесс в ее верхнем этаже, расширение холедоха выше зоны анастомоза до 5–7 мм, напряжение желчного пузыря и проксимальных отделов желчевыводящих путей. При макроскопическом исследовании печени определяли отечность ткани органа. После пересечения холедоха выше зоны анастомоза при заборе материала желчь изливалась под давлением, была темно-зеленой окраски, жидкой консистенции, мутная, иногда встречались мягкие желчные сгустки.

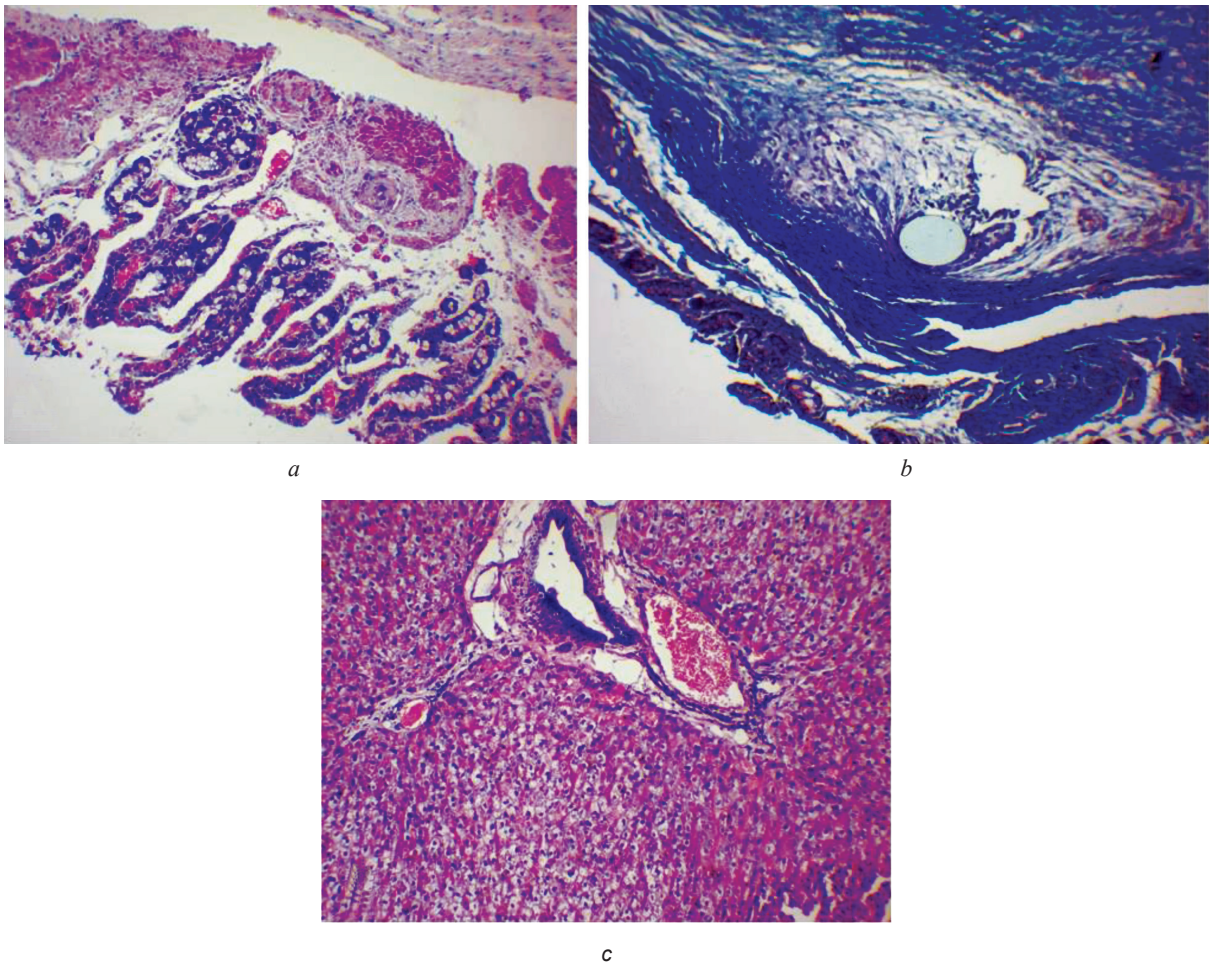


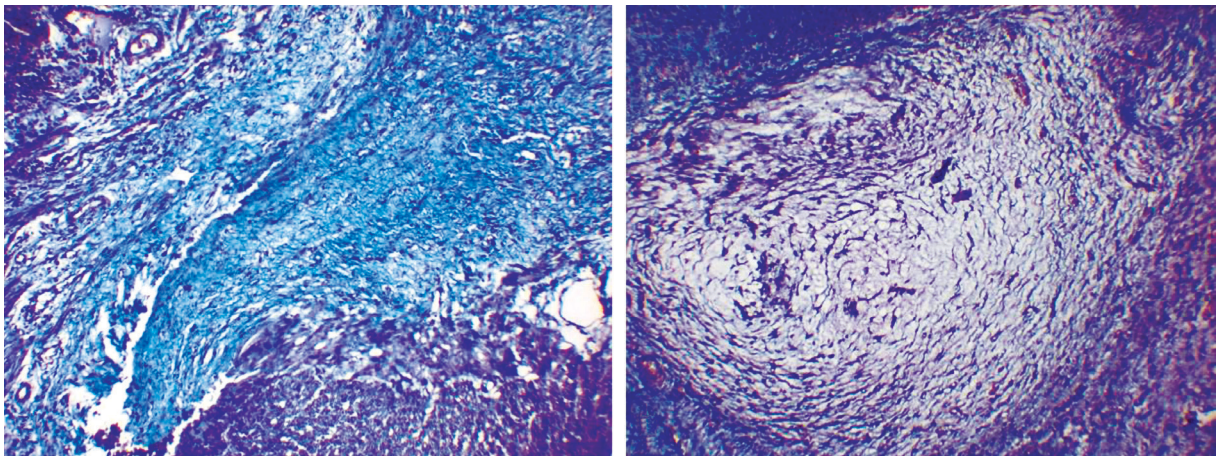
Рис. 2. Гистологическое исследование биоптатов тканей, взятых на 15-е сутки из краев зоны анастомоза (*a* – окраска гематоксилином и эозином; *b* – окраска трихром) и из ткани печени (*c* – окраска гематоксилином и эозином) у животных группы 1. ×100

Fig. 2. Histological examination of tissue biopsies taken on the 15th day from the edges of the anastomosis zone (*a* – hematoxylin and eosin staining; *b* – trichrome staining) and from the liver tissue (*c* – hematoxylin and eosin staining) in animals of group 1. × 100

Гистологическое исследование биоптатов тканей, взятых из краев зоны анастомоза у животных группы 1 на 15-е сутки, показало воспалительную инфильтрацию стенки ОЖП, более выраженную со стороны слизистой оболочки (СО), с образованием рыхлой отечной СТ. Стенка холедоха была отечной, в СО выявлены кровоизлияния, расширенные и полнокровные сосуды микроциркуляторного русла (рис. 2, *a*), вокруг шва визуализировался плотный рубец (рис. 2, *b*). Со стороны печени: внутрипеченочные ЖП расширены, очаговая пролиферация с очаговым перидуктальным фиброзом и формированием аденоматозных структур, а также участки лимфогистиоцитарной инфильтрации ткани с мелкими очагами некроза гепатоцитов (рис. 2, *c*).

На 30-е сутки в зоне анастомоза отмечено формирование грубого соединительнотканного рубца (рис. 3, *a*). В области шва визуализировалась грануляционная и незрелая рубцовая ткань (рис. 3, *b*). Вокруг шва наблюдались многочисленные клетки инородных тел и диффузно-очаговая лимфогистиоцитарная инфильтрация. Признаки эпителизации и участки нерезорбированного некроза отсутствовали.

Со стороны печени выявлялись умеренная лимфогистиоцитарная инфильтрация портальных трактов и их перивенозный отек, пролиферация клеток Купфера с расширением междольковых, поддольковых и центральных вен. В отдельных портальных венах отмечались фибриновые тромбы, выстилание фибрином стенки вен. Наблюдалась очаговая пролиферация ЖП и перидуктальная лимфоцитарная инфильтрация.



a *b*

Рис. 3. Зона анастомоза у животных группы 1 на 30-е сутки (*a*, *b* – окраска трихром). ×100

Fig. 3. Anastomosis zone in the group 1 animals on the 30th day (*a*, *b* – trichrome staining). ×100

В группе 2 на 15-е сутки в зоне анастомоза отмечались распространенная выраженная лимфоцитарная инфильтрация всех слоев СО, наложения фибрина по линии анастомоза. Определялся язвенно-некротический дефект слизистой, частично заполненный гнойно-некротическими массами. Наблюдалась выраженная сосудистая реакция: капилляры были резко расширены, переполнены кровью. В области швов отмечались некроз и воспаление тканей. Наблюдалось также значительное утолщение стенки протока за счет разрастания грануляционной и фиброзной ткани (очагово замещающей мышечную и серозную оболочки) с очагами склероза (рис. 4, *a*) и грануляционной тканью разной степени зрелости (рис. 4, *b*).

В печени наблюдалось расширение портальных траков, в отдельных венах отмечалась сепарация плазмы, центральные вены были очагово расширены. Выявлены очаговая пролиферация с эктазией ЖП, перидуктальный отек и лимфоцитарная инфильтрация тканей (рис. 4, *c*).

Во 2-й группе на 30-е сутки в зоне анастомоза, слизистой и мышечной оболочках отмечалась выраженная лимфоцитарная инфильтрация. Вокруг шва располагалась рыхлая отечная СТ (рис. 5, *a*). Наблюдались обилие клеток инородных тел, мелкие локусы некроза в СО, обширные поля грануляционной и фиброзной ткани разной степени зрелости (рис. 5, *b*). Коллагеновые волокна СТ располагались хаотично, клеточная структура представлена преимущественно фибробластами. Стенка протока утолщена за счет формирования плотного рубца (рис. 5, *c*).

В ткани печени животных группы 2 на 30-е сутки отмечалась очаговая зернистая и жировая дистрофия гепатоцитов, в отдельных участках – формирование септ. Наблюдались распространенные перипортальные лейкоцитарные инфильтраты. Центральные вены были расширены, часто с оксифильным гомогенным содержимым. В синусоидных капиллярах определялись очаги сладжирования эритроцитов. Выявлялись расширенные подкапсульные и внутрипеченочные ЖП с лимфогистиоцитарной инфильтрацией и формированием стриктур.

Таким образом, согласно результатам морфологического исследования, в группе контроля (группа 1) на 15-е и 30-е сутки отмечалось адекватное заживление анастомоза с формированием в зоне соустья невыраженной рубцовой ткани (как элемент стандартных регенеративных процессов при формировании соустья). В группе 2 при воздействии на ткани соустья нитрата калия отмечено такое же формирование некроза слизистой и глубжележащих тканей с образованием рубца, как и при ишемическом повреждении ткани, с развитием грубой СТ и стриктуры анастомоза и последующими изменениями в ткани печени – возникновением холангита и холестатического синдрома.

Результаты иммуногистохимического исследования экспрессии основных биомаркеров воспаления и начала фибротических процессов в зоне анастомоза представлены в табл. 1.

Количественный анализ экспрессии IL-6 показал статистически значимое повышение этого цитокина по сравнению с контрольными значениями, при этом уровень его экспрессии оставался

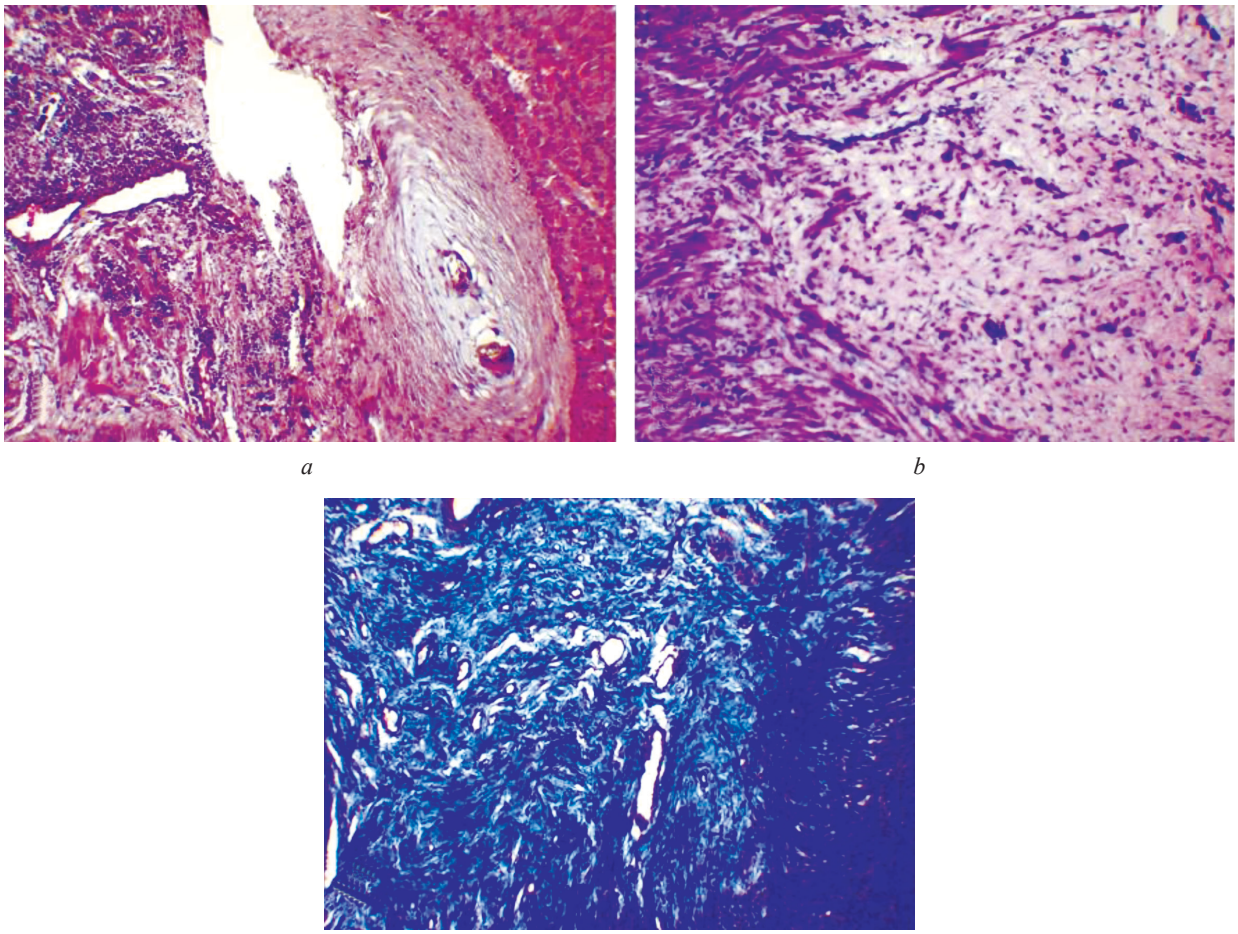


Рис. 4. Зона анастомоза у животных группы 2 на 15-е сутки (*a*, *b* – окраска трихромом; *c* – окраска гематоксилином и эозином). ×100

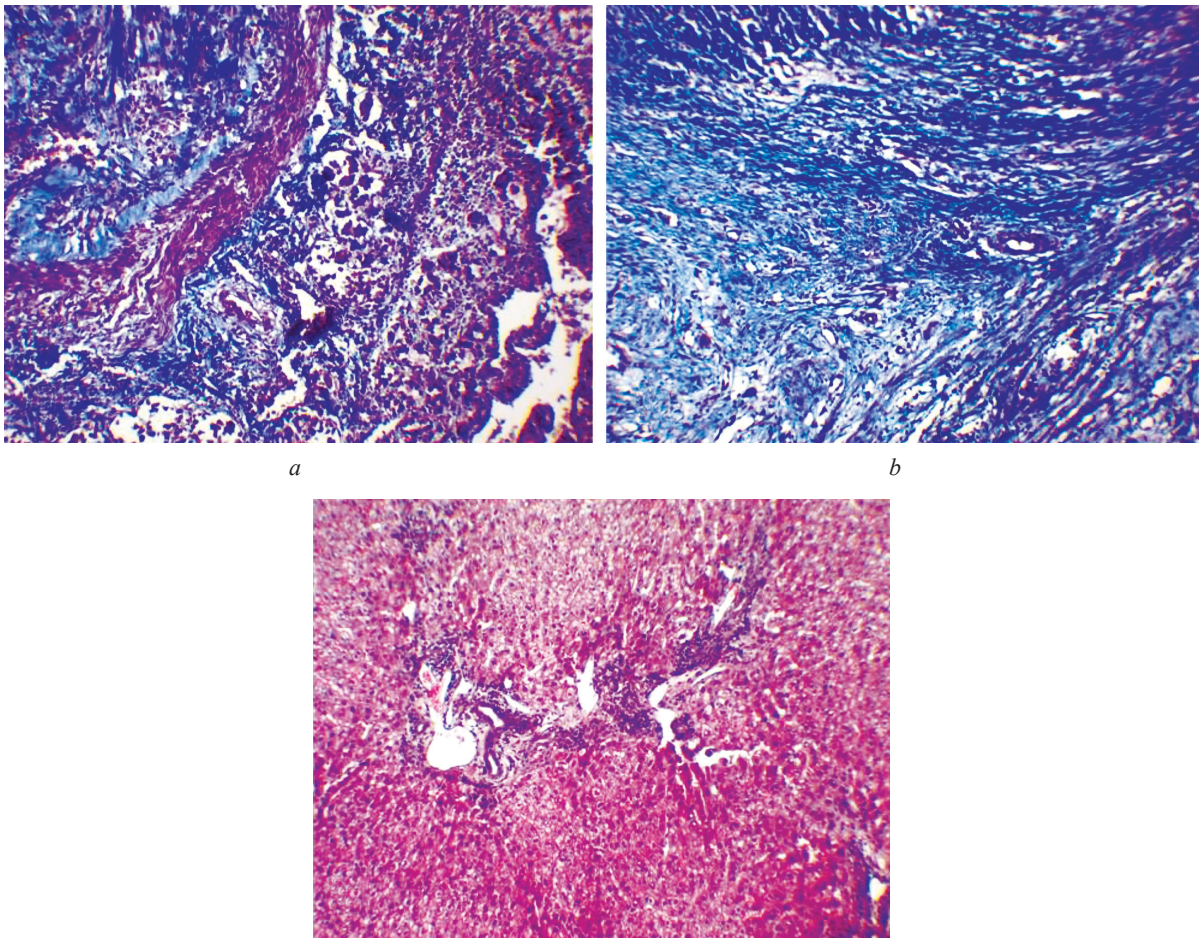
Fig. 4. Anastomosis zone in the group 2 animals on the 15th day (*a*, *b* – trichrome staining; *c* – hematoxylin and eosin staining). ×100

стабильно высоким и в динамике эксперимента. В то же время количественный анализ экспрессии IL-1b выявил резкое повышение уровня провоспалительного цитокина в группе 1 (преимущественно на ранних сроках эксперимента). Так как ИЛ-6 является одним из основных медиаторов воспаления с широким спектром действия, повышение его экспрессии свидетельствует о выраженной воспалительной реакции в тканях, при этом увеличение экспрессии IL-1b на ранних сроках эксперимента может свидетельствовать об острейшей фазе воспаления.

Высвобождение провоспалительных цитокинов в сочетании с повышенным уровнем тромбина также провоцирует и усиливает синтез PAI-1, являющегося белком острой фазы воспаления. PAI-1 оказывает антифиброзный эффект, который связан с повышенной активностью матриксных металлопротеиназ, повышенной проницаемостью сосудов, ингибированием плазминогена и изменением содержания трансформирующего фактора роста-β (TGF-β), способствующего фиброгенезу. Снижение экспрессии PAI-1 при этом является прогностическим признаком прогрессирования фиброза.

Воспаление всегда сопряжено с процессами ангиогенеза. К наиболее хорошо изученным регуляторам ангиогенеза относится фактор роста сосудистого эндотелия (VEGF). Показатель экспрессии VEGF в основной серии был достоверно выше, чем в контрольной группе ($p < 0,05$). Снижение уровня экспрессии фактора роста сосудистого эндотелия может свидетельствовать о начале фазы заживления.

Результаты иммуноферментного анализа представлены в табл. 2.



a *b*

c

Рис. 5. Зона анастомоза у животных группы 2 на 30-е сутки (*a*, *b* – окраска гематоксилином и эозином; *c* – окраска трихромом). ×100

Fig. 5. Anastomosis zone in the group 2 animals on the 30th day (*a*, *b* – hematoxylin and eosin staining; *c* – trichrome staining). ×100

Таблица 1. **Иммуногистохимическая оценка экспрессии биомаркеров в зоне анастомоза кроликов, Me (25 %; 75 %)**

Table 1. **Immunohistochemical assessment of biomarker expression in the anastomosis zone of rabbits, Me (25 %; 75 %)**

Сроки выведения животных из эксперимента	Группа 1				Группа 2				*p*
	VEGF (40,93)*	PAI 1 (39,48)*	IL-1β (53,69)*	IL-6 (31,86)*	VEGF (40,93)*	PAI 1 (39,48)*	IL-1β (53,69)*	IL-6 (31,86)*	
15-е сутки	78,64	43,85	78,30	41,69	51,42	39,25	46,79	42,65	<0,05
30-е сутки	50,67	52,31	38,44	34,52	37,83	47,54	32,81	50,52	<0,05

Примечание. Здесь и в табл. 2 звездочкой обозначены контрольные значения.

Таблица 2. **Динамика биомаркеров в крови кроликов, Me (25 %; 75 %)**

Table 2. **Dynamics of biomarkers in the blood of rabbits, Me (25 %; 75 %)**

Сроки выведения животных из эксперимента	Группа 1				Группа 2				*p*
	PDGF (18,35)*	VEGF (1096,00)*	IL-1β (125,50)*	IL-6 (446,00)*	PDGF (18,35)*	VEGF (1096,00)*	IL-1β (125,50)*	IL-6 (446,00)*	
15-е сутки	21,00	858,00	112,00	438,00	20,50	858,00	143,00	496,00	<0,05
30-е сутки	28,10	810,00	131,00	451,00	17,25	810,00	235,50	1025,50	<0,05

Так как PDGF также является важным фактором хемотаксиса, пролиферации и активации образующих матрикс клеток (в том числе миофибробластов), можно предположить, что повышенная концентрация биомаркера связана с процессами фиброгенеза. Сниженные показатели VEGF в сыворотке крови кроликов группы 2 свидетельствуют о выраженной тканевой пролиферации в зоне анастомоза и о начале репаративных процессов. Повышенные значения IL-1b и IL-6 указывают на выраженное воспаление в зоне соустья, особенно на 30-е сутки на фоне повреждения тканей при инъекции нитрата калия и запуске репаративных процессов с формированием грубоволокнистой СТ.

Результаты проведенных биохимических исследований представлены в табл. 3.

Таблица 3. **Динамика биохимических показателей у животных, Me (25 %; 75 %)**

Table 3. **Dynamics of biochemical parameters in animals, Me (25 %; 75 %)**

Показатель	Контроль	1-я группа (n = 20)			2-я группа (n = 20)		
		15-е сутки	30-е сутки	p	15-е сутки	30-е сутки	p
Холестерин, ммоль/л	1,1	0,53 (0,49; 0,59)	1,25 (0,85; 1,85)	<0,05	4,13 (3,25; 5,86)	3,0 (2,50; 3,05)	0,225
Билирубин, мкмоль/л	126,3	75,9 (71,5; 78,0)	98,3 (93,7; 111,0)	<0,05	80,1 (60,3; 106,3)	124,5 (100,0; 126,0)	<0,05
ЩФ, Е/л	111,3	49,2* (45,41; 54,1)	112,2 (105,3; 113,5)	$p < 0,05$	94,8 (91,7; 99,0)	121,0 (120,09; 126,6)	0,345
АЛТ, Е/л	56,2	54,9 (53,7; 57,5)	66,7 (64,8; 70,0)	$p = 0,345$	113,0* (109,8; 144,0)	60,0 (59,4; 64,0)	<0,05
АСТ, Е/л	27,3	12,9* (12,5; 13,9)	57,9 (54,5; 60,0)	$p < 0,05$	130,0* (120,0; 180,0)	35,0 (29,9; 37,0)	<0,05
СРБ, мг/л	5,5	13,0* (12,6; 13,8)	2,9 (2,7;3,5)	$p < 0,05$	30,0* (29,0; 33,4)	0,06* (0,04; 0,07)	<0,05

Примечание. * – различия с контрольной группой статистически значимы при $p < 0,05$.

В группах 1 и 2 на 15-е сутки после операции уровень С-реактивного белка (СРБ) в крови значительно превышал контрольный ($p < 0,05$), что свидетельствовало о развитии острофазовой воспалительной реакции в ответ на операционную травму, а на 30-е сутки снижался.

На 15-е сутки в группе 2 выявлены сдвиги ферментов АЛТ, АСТ в сторону повышения их уровня в 2,1 раза ($p < 0,05$) и 4,8 раза ($p < 0,05$) соответственно. Повышение у кроликов этой группы уровня СРБ в 5,5 раза ($p < 0,05$) свидетельствовало о развитии и прогрессировании холестатического и цитолитического синдромов на фоне механической желтухи и холангита.

Заключение. Разработана и апробирована новая экспериментальная модель стриктуры холедохоеюноанастомоза у кроликов, подтверждаемая морфологическим исследованием и динамикой биохимических показателей крови оперированных животных.

Регенерация в зоне анастомоза у животных группы 1 завершается рубцеванием, у животных двух групп отмечаются удлинение сроков регенерации, сохранение воспалительного инфильтрата тканей в зоне соустья на 30-е сутки с отсутствием эпителизации, избыточным разрастанием грубоволокнистой соединительной ткани и появлением очагов склероза (формирование рубцовых стриктур).

Диагностическое значение для выявления риска склероза и избыточного рубцевания в зоне регенерации тканей имеет снижение уровня экспрессии VEGF в сыворотке крови.

Наиболее информативным иммуногистохимическим критерием острой фазы воспаления в зоне билиодигестивного соустья является повышение экспрессии IL-6 и PAI-1, а острейшей фазы воспаления – увеличение уровня IL-1β на 30-е сутки в обеих экспериментальных группах.

На 15-е сутки после операции установлено повышение уровня трансфераз в крови лабораторных животных, зафиксирована интенсификация воспалительной реакции, что свидетельствует о прогрессировании холестатического и цитолитического синдромов на фоне холангита.

Использование разработанной модели холедохоеюноанастомоза в дальнейших исследованиях позволит установить биохимические, морфологические и иммуногистохимические критерии прогнозирования развития осложнений гепатобилиарной патологии, что и определит выбор лечебно-профилактической тактики ведения пациентов.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список использованных источников

1. Гальперин, Э. И. Факторы, определяющие выбор операции при «свежих» повреждениях магистральных желчных протоков / Э. И. Гальперин, А. Ю. Чевокин // Анналы хирург. гепатологии. – 2009. – Т. 14, № 1. – С. 49–56.

2. Long-term results and risk factors influencing outcome of major bile duct injuries following cholecystectomy / S. C. Schmidt [et al.] // Br. J. Surg. – 2005. – Vol. 92, N 1. – P. 76–82. https://doi.org/10.1002/bjs.4775

3. Bonnel, D. H. Percutaneous transhepatic balloon dilatation of benign bilioenteric strictures: long-term results in 110 patients / D. H. Bonnel, A. L. Fingarhut // Am. J. Surg. – 2012. – Vol. 203, N 6. – P. 675–683. https://doi.org/10.1016/j.amjsurg.2012.02.001

4. Gastaca, M. Biliary complications after orthotopic liver transplantation: a review of incidence and risk factors / M. Gastaca // Transplant. Proc. – 2012. – Vol. 44, N 6. – P. 1545–1549. https://doi.org/10.1016/j.transproceed.2012.05.008

5. The role of percutaneous transhepatic cholangioscopy in patients with hilar strictures. / J. Y. Jung [et al.] // Gut Liver. – 2007. – Vol. 1, N 1. – P. 56–62. https://doi.org/10.5009/gnl.2007.1.1.56

6. Percutaneous transhepatic cholangioscopic intervention in the management of complete membranous occlusion of bilioenteric anastomosis: report of two cases / D.-H. Yang [et al.] // Gut Liver. – 2009. – Vol. 4, N 3. – P. 352–355. https://doi.org/10.5009/gnl.2009.3.4.352

7. Alpini, G. The pathobiology of biliary epithelia / G. Alpini, J. M. McGill, N. F. LaRusso // Hepatology. – 2002. – Vol. 35, N 5. – P. 1256–1268. https://doi.org/10.1053/jhep.2002.33541

8. Letterio, J. J. Regulation of immune responses by TGF-b / J. J. Letterio, A. B. Roberts // Annu. Rev. Immunol. – 1998. – Vol. 16. – P. 137–161. https://doi.org/10.1146/annurev.immunol.16.1.137

9. Targeted disruption of the mouse transforming growth factor-b1 gene results in multifocal inflammatory disease / M. M. Shull [et al.] // Nature. – 1992. – Vol. 359, N 6397. – P. 693–699. https://doi.org/10.1038/359693a0

10. Up-regulation of endoglin on vascular endothelial cells in human solid tumors: implications for diagnosis and therapy / F. J. Burrows [et al.] // Clin. Cancer Res. – 1995. – Vol. 1, N 12. – P. 1623–1634.

References

1. Gal'perin E. I., Chevokin A. Yu. Factors determining the selection of the operation when "fresh" damage to the main bile duct. *Annaly khirurgicheskoi gepatologii* [Annals of surgical hepatology], 2009, vol. 14, no. 1, pp. 49–56 (in Russian).

2. Schmidt S. C., Langrehr J. M Hintze R. E., Neuhaus P. Long-term results and risk factors influencing outcome of major bile duct injuries following cholecystectomy. *British Journal of Surgery*, 2005, vol. 92, no. 1, pp. 76–82. https://doi.org/10.1002/bjs.4775

3. Bonnel D. H., Fingarhut A. L. Percutaneous transhepatic balloon dilatation of benign bilioenteric strictures: long-term results in 110 patients. *American Journal of Surgery*, 2012, vol. 203, no. 6, pp. 675–683. https://doi.org/10.1016/j.amjsurg.2012.02.001

4. Gastaca M. Biliary complications after orthotopic liver transplantation: a review of incidence and risk factors. *Transplantation Proceedings*, 2012, vol. 44, no. 6, pp. 1545–1549. https://doi.org/10.1016/j.transproceed.2012.05.008

5. Jung J. Y., Lee S. K., Oh H.-C., Lee T.-Y., Kwon S. H., Lee S. S., Seo D. W., Kim M.-H. The role of percutaneous transhepatic cholangioscopy in patients with hilar strictures. *Gut and Liver*, 2007, vol. 1, no. 1, pp. 56–62. https://doi.org/10.5009/gnl.2007.1.1.56

6. Yang D.-H., Lee S. K., Moon S.-H., Park D. H., Lee S. S., Seo D. W., Kim M.-H. Percutaneous transhepatic cholangioscopic intervention in the management of complete membranous occlusion of bilioenteric anastomosis: report of two cases. *Gut and Liver*, 2009, vol. 4, no. 3, pp. 352–355. https://doi.org/10.5009/gnl.2009.3.4.352

7. Alpini G., McGill J. M., LaRusso N. F. The pathobiology of biliary epithelia. *Hepatology*, 2002, vol. 35, no. 5, pp. 1256–1268. https://doi.org/10.1053/jhep.2002.33541

8. Letterio J. J., Roberts A. B. Regulation of immune responses by TGF-b. *Annual Review of Immunology*, 1998, vol. 16, pp. 137–161. https://doi.org/10.1146/annurev.immunol.16.1.137

9. Shull M. M., Ormsby l., Kier A. B., Pawlowski S., Diebold R. J., Yin M. [et al.] Targeted disruption of the mouse transforming growth factor-b1 gene results in multifocal inflammatory disease. *Nature*, 1992, vol. 359, no. 6397, pp. 693–699. https://doi.org/10.1038/359693a0

10. Burrows F. J., Derbyshire E. J., Tazzari P. L., Amlot P., Gazdar A. F., King S. W., Letarte M., Vitetta E. S., Thorpe P. E. Up-regulation of endoglin on vascular endothelial cells in human solid tumors: implications for diagnosis and therapy. *Clinical Cancer Research*, 1995, vol. 1, no. 12, pp. 1623–1634.

Информация об авторах

Орловский Юрий Николаевич – канд. мед. наук, доцент. Белорусский государственный медицинский университет (ул. Кижеватова, 58, 220024, г. Минск, Республика Беларусь). https://orcid.org/0000-0002-9923-9008. E-mail: arlouski1392@yandex.ru

Гаин Юрий Михайлович – д-р мед. наук, профессор. Белорусский государственный медицинский университет (ул. Энгельса, 27, 220030, г. Минск, Республика Беларусь). https://orcid.org/0000-0001-7622-5642. E-mail: gain@tut.by

Владимирская Татьяна Эрнстовна – канд. биол. наук, доцент, руководитель отдела. Белорусский государственный медицинский университет (п.Лесной, 31, 220030, Минский р-н, Республика Беларусь). https://orcid.org/0000-0002-0777-192X. E-mail: tan_2304@inbox.ru

Юрага Тамара Михайловна – ст. науч. сотрудник. Белорусский государственный медицинский университет (п. Лесной, 31, 220030, Минский р-н, Республика Беларусь). https://orcid.org/0009-0002-0904-5734. E-mail: 6914593@mail.ru

Чернов Олег Николаевич – врач-хирург. Городская клиническая больница скорой медицинской помощи г. Минска (ул. Кижеватова, 58, 220024, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: olegchernovby@gmail.com

Information about the authors

Yury N. Arlouski – Ph. D. (Med.), Associate Professor. Belarusian State Medical University (58, Kizhevatov Str., 220024, Minsk, Republic of Belarus). https://orcid.org/0000-0002-9923-9008. E-mail: arlouski1392@yandex.ru

Yury M. Gain – D. Sc. (Med.), Professor. Belarusian State Medical University (27, Engels Str., 220030, Minsk, Republic of Belarus). https://orcid.org/0000-0001-7622-5642. E-mail: gain@tut.by

Tatuana E. Vladimirskaya – Ph. D. (Biol.), Associate Professor, Head of the Department. Belarusian State Medical University (31, Lesnoy, 220030, Minsk district, Republic of Belarus). https://orcid.org/0000-0002-0777-192X. E-mail: tan_2304@inbox.ru

Tamara M. Yuraga – Senior Researcher. Belarusian State Medical University (31, Lesnoy, 220030, Minsk district, Republic of Belarus). https://orcid.org/0009-0002-0904-5734. E-mail: 6914593@mail.ru

Oleg N. Chernov – Surgeon. City Clinical Hospital of Emergency Medical Care of Minsk (58, Kizhevatov Str., 220024, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: olegchernovby@gmail.com

ISSN 1814-6023 (Print)
ISSN 2524-2350 (Online)
УДК 616.36-073.756.8:681.31
https://doi.org/10.29235/1814-6023-2024-21-3-241-250

Поступила в редакцию 23.03.2024
Received 23.03.2024

О. Е. Кузнецов[1], В. М. Цыркунов[2], М. В. Ершова[3], И. Л. Парай[3]

[1]Институт биохимии биологически активных соединений НАН Беларуси, Гродно, Республика Беларусь
[2]Гродненский государственный медицинский университет, Гродно, Республика Беларусь
[3]Гродненская университетская клиника, Гродно, Республика Беларусь

ИЗМЕНЕНИЯ БИОХИМИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ КРОВИ ПРИ ПЕРВИЧНОМ РАКЕ ПЕЧЕНИ, АССОЦИИРОВАННОМ С ВИРУСАМИ

Аннотация. В настоящее время в мире ежегодно регистрируется около 1 млн новых случаев рака печени (РП), являющегося причиной смерти 85 % пациентов.

Цель исследования – установить особенности изменения биохимических показателей крови при РП на фоне персистирования ДНК/РНК вирусов.

Обследованы 247 пациентов с морфологически установленным РП, гепатитом и здоровые лица. Предметом исследований являлись биохимические и молекулярно-биологические показатели ДНК/РНК вирусов. Установлено, что характер биохимических сдвигов и нарушений у пациентов с РП указывает на одновременное нарушение большинства физиологических функций паренхиматозных органов. В то же время там формируются синдромы цитолиза, холестаза, иммунных и аутоиммунных нарушений, основная роль в которых отводится инфекционному (ДНК/РНК вирусов) и онкологическому процессам. Наиболее важными биохимическими маркерами при РП являются показатели ферментов (АсАТ, АлАТ, щелочной фосфатазы, лактатдегидрогеназы, альфа-амилазы), билирубина, креатинина, альбумина, триглицеридов, гаммаглютамилтранспептидазы, микроэлементов (биогенных – магния, фосфора, кальция). Среди выявленных при РП вирусов ведущая роль принадлежит верифицируемым в ткани опухоли вирусам VEB и HHV6, которые формируют стойкие биохимические изменения.

Ключевые слова: гепатит, рак печени, биохимические показатели, вирусы, метаболизм

Для цитирования: Изменения биохимических показателей крови при первичном раке печени, ассоциированном с вирусами / О. Е. Кузнецов [и др.] // Вес. Нац. акад. навук Беларусі. Сер. мед. навук. – 2024. – Т. 21, № 3. – С. 241–250. https://doi.org/10.29235/1814-6023-2024-21-3-241-250

Aleh E. Kuzniatsou[1], Vladimir M. Tsyrkunov[2], Marina V. Ershova[3], Irina L. Parai[3]

[1]Institute of Biochemistry of Biologically Active Compounds of the National Academy of Sciences of Belarus, Grodno, Republic of Belarus
[2]Grodno State Medical University, Grodno, Republic of Belarus
[3]Grodno University Clinic, Grodno, Republic of Belarus

CHANGES IN BIOCHEMICAL BLOOD INDICATORS IN PRIMARY LIVER CANCER ASSOCIATED WITH VIRUSES

Abstract. Currently, about million new cases of liver cancer (LC) are being registered annually in the world, causing death in 85 % of patients.

The purpose of the study is to establish the features of changes in biochemical blood parameters in RP against the background of persistence of DNA/RNA viruses.

Patients (n = 247) with morphologically established liver cancer, hepatitis and healthy individuals were examined. The subject of research was the biochemical and molecular biological parameters of DNA/RNA viruses. It was established that the nature of biochemical changes and disorders in patients with liver cancer indicates a simultaneous violation of most physiological functions of parenchymal organs, in which syndromes of cytolysis, cholestasis, immune and autoimmune disorders are simultaneously formed, the main role in which belongs to infectious (DNA/RNA viruses) and oncological processes. The most important biochemical markers in liver cancer are enzymes (AST, ALT, ALP, LDH, alpha-amylase), bilirubin, creatinine, albumin, triglycerides, GGTP, microelements (biogenic – magnesium, phosphorus, calcium). Among the viruses detected during liver cancer, the leading role belongs to viruses verified in tumor tissue, the presence of which causes persistent biochemical changes: VEB and HHV6.

Keywords: hepatitis, liver cancer, biochemical parameters, viruses, metabolism

For citation: Kuzniatsou A. E., Tsyrkunov V. M., Ershova M. V., Parai I. L. Changes in biochemical blood indicators in primary liver cancer associated with viruses. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya medytsynskikh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2024, vol. 21, no. 3, pp. 241–250 (in Russian). https://doi.org/10.29235/1814-6023-2024-21-3-241-250

Введение. Актуальность борьбы с онкологическими заболеваниями определяется трудностями их верификации, медицинской, социальной и экономической значимостью этих процессов и высоким уровнем летальности, что позволяет отнести проблему ранней диагностики к одной из ключевых [1].

В настоящее время в мире ежегодно регистрируется около 1 млн новых случаев рака печени (РП), являющегося причиной смерти 85 % пациентов. Частота его увеличивается по мере старения населения, достигая пика у лиц в возрасте около 70 лет. Беларусь относится к странам с невысоким уровнем заболеваемости РП, однако почти в 35 % случаев РП диагностируется на III и IV стадиях, а 5-летняя выживаемость варьируется от 60,6 до 14,5 % [2, 3].

По оценке Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), в 2022 г. хроническим гепатитом В или С страдали 354 млн человек и около 3 млн человек заразились за год. На гепатиты В и С приходилось 96 % из 1,1 млн смертей от всех вирусных гепатитов и до 2 млн случаев смертельных исходов вследствие развития циррозов печени и гепатоцеллюлярной карциномы [4, 5].

Среди опухолей желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) заболеваемость и смертность от рака гепатопанкреатобилиарной зоны составляют 37 и 48 %, а доля РП – 25 и 33 % соответственно. За последние 20 лет заболеваемость РП в Беларуси увеличилась на 45,7 % (ежегодный прирост – на 1,7 %), а к 2025 г. прогнозируется увеличение на 5,9 % [6–8].

Абсолютно точных методов ранней диагностики РП нет. Лучевые (УЗИ, КТ, МРТ, сцинтиграфия, ПЭТ) и инструментальные (целиакография, чрескожная пункционная биопсия) методы исследования не позволяют надежно диагностировать очаговые поражения печени диаметром менее 3–5 мм, что могло бы существенно изменить тактику лечения пациентов. Поскольку печень обладает высокими регенераторной и компенсаторной возможностями, то использование даже таких наиболее чувствительных биохимических показателей, характеризующих ее функцию, как онкомаркеры, не всегда позволяет достоверно диагностировать наличие опухолей печени не только мелких, но и средних размеров. Современные технологии оставляют определенный шанс на продление жизни этой категории пациентов [9, 10].

К настоящему времени описано множество биологических маркеров, определение которых в клетках, тканях или жидкостях организма может способствовать не только выявлению РП, но и служить индикатором биологических особенностей или распространенности РП в организме. В настоящее время предметом исследований является определение маркеров, которые позволят диагностировать опухоль, оценить риски развития заболевания и служить биологическим индикатором опухолевого процесса [11, 12].

Попытки повысить эффективность диагностики РП, разработать полифункциональные методы исследования представляются важными. Наряду с известными морфологическими критериями, дающими представление о местном распространении опухолевого процесса (количество образований и их локализация, степень поражения регионарных лимфатических узлов, наличие отдаленных метастазов), комплекс методик дополнен показателями, характеризующими функциональное состояние ЖКТ в целом (поглотительно-выделительная функция, функция желчного пузыря, сфинктерного аппарата, желчных протоков, соотношение двигательных и секреторных функций, количественное определение дуоденогастрального рефлюкса и эвакуаторной функции желудка и др.) [8]. Противоречивые результаты немногих публикаций последних лет не позволяют судить о клинической значимости этих методов.

Таким образом, несмотря на определенный прогресс в диагностике и лечении РП, внедрение в клиническую практику современных методов терапии злокачественных новообразований печени остается одной из сложнейших проблем гепатологии и онкологии.

Цель исследования – установить особенности изменения биохимических показателей крови при раке печени на фоне персистирования ДНК/РНК вирусов.

Материалы и методы исследования. Материалом для исследования являлись образцы сыворотки крови пациентов с установленным диагнозом РП и вирусным гепатитом (С, В). Время установления диагноза – от 6 мес. до 13 лет. Возраст обследуемых на момент постановки диагноза – от 39 до 87 лет (61,8 ± 13,7 года). Диагноз онкологического заболевания подтвержден морфологи-

ческими методами (патоморфологическая лаборатория Гродненского областного клинического патологоанатомического бюро) в соответствии с Международной гистологической классификацией [13]. Протоколы экспериментов одобрены локальным этическим комитетом УО «ГрГМУ», протокол № 3 от 23.02.2022.

Материалом для исследования служили образцы сыворотки крови лиц, проживающих в Гродненском регионе (получены при обращении за медицинской помощью в региональный онкологический диспансер Гродненской университетской клиники, Гродненскую областную инфекционную клиническую больницу, профессорский консультационный центр Гродненского государственного медицинского университета), и образцы тканей печени лиц с опухолевым процессом (гепатоцеллюлярная карцинома (ГЦК)) из Гродненского областного клинического патологоанатомического бюро.

Общее количество обследованных составило 167 пациентов. Все они были разделены на три группы: группа 1 (n = 66) – пациенты с хроническим гепатитом С (ХГС), группа 2 (n = 60) – пациенты с хроническим гепатитом В (ХГВ), группа 3 (n = 41) – пациенты с морфологически установленным РП, отнесенным к С22 (гепатоцеллюлярный рак). Группа 4 (контрольная) была представлена образцами крови 80 практически здоровых лиц (46 (57,5 %) мужчин и 34 (42,5 %) женщин (средний возраст 56,5 ± 8,3 года (min – 42 года, max – 68 лет)), не имевших злокачественного новообразования и маркеров вирусных инфекций на момент обследования, у которых не было родственников с онкопатологией. Исследуемым материалом во всех группах была сыворотка крови, в группе 3 – дополнительно ткань печени.

Предметом исследований являлись биохимические показатели крови: железо (Fe), кальций (Ca), магний (Mg), фосфор (P), общий белок, общий билирубин, глюкоза, мочевина, креатинин, холестерол, аланинаминотрансфераза (АлАТ), аспартатаминотрансфераза (АсАТ), С-реактивный белок (СРБ), мочевая кислота, триглицериды, альбумин, щелочная фосфатаза (ЩФ), альфа-амилаза, лактатдегидрогеназа (ЛДГ), липопротеины высокой плотности (ЛПВП), липопротеины низкой плотности (ЛПНП), гаммаглютамилтранспептидаза (ГГТП), иммуноглобулины A, M, G (IgA, IgM, IgG) и молекулярно-биологические маркеры ДНК/РНК вирусов – VEB/ВЭБ, HBV/ВГВ, HCV/ВГС, CMV/ЦМВ, HSV1/2/ВПГ 1/2 типа, HPV (31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59) / ВПЧ (31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59).

Спектр биохимических показателей крови определяли на анализаторе BS-330 (Mindray, Китай), используя реагенты производства Diasense (Беларусь).

Молекулярно-биологическое исследование вирусной ДНК/РНК выполняли в экстрактах тканей печени, опухолевые образцы которых получены в Гродненском областном клиническом патологоанатомическом бюро, и в образцах крови. Выделение и детекцию ДНК/РНК (ПЦР-анализ) проводили согласно инструкциям производителя (тест-системы Promega, США, и «АмплиСенс», Россия) в автоматическом режиме на амплификаторе RotorGene (Германия). Контроль количественных и качественных характеристик ДНК/РНК осуществляли на спектрофотометре BioPhotometer Plus (Германия).

Результаты, полученные в ходе исследования, заносили в оригинальную базу данных. Статистическую обработку данных проводили с использованием стандартного пакета прикладных статистических программ SPSS (StatSoft, Inc. STA999K347156-W). Различие между изучаемыми параметрами признавали достоверным при $p < 0,05$. Из методов математической обработки применяли: изучение вида распределения и получение числовых характеристик (математическое ожидание среднего – M и среднего квадратического отклонения – ±σ; критерий Стьюдента (t), тест Манна–Уитни (U), тест Вилкоксона (Z); выявление взаимосвязи между двумя переменными с помощью коэффициента корреляции Пирсона, анализа Спирмена (r).

Результаты исследования. Частота выявления вирусной ДНК/РНК в образцах экстрактов ткани и крови обследуемых групп представлена в табл. 1.

Как видно из табл. 1, в образцах ткани при РП преобладали ДНК HSV1/2 (56,1 %), ДНК HHV6 (24,4 %), ДНК CMV и РНК HCV (по 17,1 %). При ХГС с высокой частотой выявляли в крови РНК HCV (89,4 %), что подтверждало данный диагноз, реже – ДНК HSV1/2 (25,7 %). При ХГВ ДНК HBV

Таблица 1. **Частота выявления ДНК/РНК вирусов в образцах ткани и крови в группах**

Table 1. **Frequency of detection of DNA/RNA viruses from tissue and blood samples in groups**

Показатель, образец	Кол-во пациентов		Женщины		Мужчины	
	n	%	*n*	%	*n*	%
Рак печени, ткань (*n* = 41)						
HPV	2	4,9	0	0	2*	4,9
HSV1/2	23	56,1	15	36,6	8	19,5
CMV	7	17,1	2	4,9	5	12,2
VEB	1	2,4	1	2,4	0	0
HBV	2	4,8	1	2,4	1	2,4
HCV	7	17,1	1	2,4	6	14,7
HHV6 (ВПГ6)	10	24,4	1	2,4	9	21,9
ХГС, кровь (*n* = 66)						
HPV	0	0	0	0	0	0
HSV1/2	17	25,7	8	12,1	9	13,6
CMV	4	6,0	2	3,0	2	3,0
VEB	1	1,5	0	0	1	1,5
HBV*	0	0	0	0	0	0
HCV*	59	89,4	21	31,8	38	57,6
HHV6 (ВПГ6)	4	6,0	1	1,5	3	4,5
ХГВ, кровь (*n* = 60)						
HPV	0	0	0	0	0	0
HSV1/2	14	23,3	7	11,6	7	11,6
CMV	5	8,3	3	5,0	2	3,3
VEB	2	3,2	1	1,6	1	1,6
HBV*	57	95,0	26	43,3	31	51,7
HCV*	0	0	0	0	0	0
HHV6 (ВПГ6)	4	6,6	2	3,3	2	3,3
Контроль, кровь (*n* = 80)						
HPV	9	11,25	8	10	1	1,25
HSV1/2	33	41,25	15	18,75	18	22,5
CMV	8	10,0	5	6,25	3	3,75
VEB	11	13,75	7	8,75	4	5
HBV	0	0	0	0	0	0
HCV	0	0	0	0	0	0
HHV6 (ВПГ6)	1	1,25	1	1,25	0	0

* Исследование выполнялось как при первичном обращении пациента за медицинской помощью, так и при динамическом наблюдении за пациентом.

в крови выявлена у 95,0 % пациентов, ДНК HSV1/2 – у 23,2 %. В крови лиц контрольной группы чаще выделяли ДНК HSV1/2 (41,25 %), реже – ДНК VEB (13,75 %), ДНК HPV (11,25 %) и ДНК CMV (10,0 %). Частота выделения ДНК/РНК других вирусов в ткани РП и сыворотке крови при ХГВ и ХГС была менее 10 %.

Удельный вес ДНК/РНК-микст вирусов в тканях опухолей (более одной ДНК/РНК в образце) при РП составил 11/9,1 %. Варианты микст были представлены следующими сочетаниями: по два случая – ЦМВ и HHV6, ВПГ 1/2 типа и HHV6, ВПГ1/2 типа и ЦМВ; по одному случаю – ЦМВ и HCV, ВПГ 1/2 типа + HCV + HHV6, HCV и HHV6, HBV и ВЭБ и ЦМВ + HCV + HHV6.

Данные сравнительного анализа биохимических исследований крови обследуемых лиц приведены в табл. 2. При анализе результатов ориентировались как на референтные значения [14], так и на показатели контрольной группы. При выборе биохимических маркеров крови руководствовались

Таблица 2. **Результаты биохимических исследований сыворотки крови обследуемых лиц (M ± m)**

Table 2. **Biochemical results of blood serum of the examined individuals (M ± m)**

Показатель	Группа 1 (n = 66)	Группа 2 (n = 60)	Группа 3 (n = 41)	Группа 4 (n = 80)	p
Общий белок, г/л	68,1 ± 4,54	50,9 ± 15,65	60,3 ± 14,50	68,8 ± 9,07	p_{2-4} = 0,002 p_{3-4} = 0,004 p_{1-3} = 0,006 p_{2-3} = 0,002
Альбумин, г/л	43,3 ± 4,36	47,1 ± 3,51	46,7 ± 3,80	48,4 ± 4,24	p_{1-5} = 0,006 p_{1-3} = 0,006
Общий билирубин, мкмоль/л	26,9 ± 12,14	34,9 ± 20,48	48,9 ± 11,49	10,3 ± 3,90	p_{1-4} = 0,002 p_{2-4} = 0,0009 p_{3-4} = 0,00001 p_{1-3} = 0,003 p_{2-3} = 0,001
Мочевина, ммоль/л	5,0 ± 1,57	5,3 ± 1,12	5,3 ± 1,12	5,7 ± 1,52	p_{1-4} = 0,04
Креатинин, мкмоль/л	84,3 ± 13,22	95,6 ± 22,54	93,7 ± 19,46	104,7 ± 23,63	p_{1-4} = 0,005 p_{3-4} = 0,004 p_{1-3} = 0,03
Холестерол, ммоль/л	5,3 ± 1,09	5,3 ± 0,82	5,1 ± 1,29	4,9 ± 1,35	p > 0,05
Триглицериды, ммоль/л	1,3 ± 0,86	0,8 ± 0,37	0,9 ± 0,43	0,9 ± 0,59	p_{1-4} = 0,004 p_{1-3} = 0,009
ЛПВП, ммоль/л	1,5 ± 0,55	1,7 ± 0,33	1,7 ± 0,33	1,9 ± 0,42	p_{1-4} = 0,01 p_{2-4} = 0,02 p_{3-4} = 0,002
ЛПНП, ммоль/л	3,68 ± 0,84	3,7 ± 0,87	3,5 ± 0,97	3,1 ± 0,84	p_{1-4} = 0,01 p_{2-4} = 0,02
Глюкоза, моль/л	5,5 ± 1,36	4,6 ± 0,98	9,4 ± 3,72	5,3 ± 0,92	p_{2-4} = 0,001 p_{3-4} = 0,00001 p_{1-3} = 0,002 p_{2-3} = 0,0001
ГГТП, Ед/л	122,2 ± 52,38	30,5 ± 14,66	39,3 ± 17,15	18,3 ± 7,87	p_{1-4} = 0,03 p_{2-4} = 0,001 p_{3-4} = 0,01 p_{1-3} = 0,01
АлАТ, Ед/л	85,9 ± 18,11	49,7 ± 21,92	50,4 ± 15,67	30,3 ± 14,84	p_{1-4} = 0,005 p_{2-4} = 0,003 p_{3-4} = 0,02
АсАТ, Ед/л	66,9 ± 20,46	31,2 ± 10,15	38,0 ± 11,52	25,3 ± 10,73	p_{1-4} = 0,004 p_{2-4} = 0,02 p_{3-4} = 0,009
Коэффициент де Ритиса	0,77	0,62	0,75	0,83	p_{1-4} = 0,04 p_{2-4} = 0,02 p_{3-4} = 0,03
ЩФ, Ед/л	218,6 ± 67,39	192,3 ± 66,18	148,3 ± 72,28	21,2 ± 8,35	p_{1-4} = 0,00001 p_{2-4} = 0,00001 p_{3-4} = 0,00001 p_{1-3} = 0,001 p_{2-3} = 0,04
Альфа-амилаза, Ед/л	61,9 ± 24,99	68,2 ± 18,66	55,6 ± 21,78	43,4 ± 9,39	p_{1-4} = 0,004 p_{2-4} = 0,0001 p_{3-4} = 0,009 p_{2-3} = 0,02
ЛДГ, Ед/л	411,8 ± 76,32	371,6 ± 167,33	375,0 ± 152,34	343,9 ± 47,11	p_{1-4} = 0,002
Fe, мкмоль/л	19,9 ± 12,34	21,6 ± 6,54	19,4 ± 9,04	15,5 ± 4,08	p_{2-4} = 0,02
Ca, ммоль/л	2,6 ± 0,15	2,5 ± 0,28	2,3 ± 0,38	2,1 ± 0,44	p_{1-4} = 0,002 p_{2-4} = 0,002 p_{3-4} = 0,04 p_{1-3} = 0,004 p_{2-3} = 0,06

Окончание табл. 2

Показатель	Группа 1 (n = 66)	Группа 2 (n = 60)	Группа 3 (n = 41)	Группа 4 (n = 80)	p
Mg, ммоль/л	0,8 ± 0,25	0,8 ± 0,07	0,9 ± 0,14	1,1 ± 0,12	p_{1-4} = 0,002 p_{2-4} = 0,001 p_{3-4} = 0,002 p_{2-3} = 0,004
P, ммоль/л	1,1 ± 0,17	0,9 ± 0,12	0,9 ± 0,16	0,9 ± 0,12	p_{1-4} = 0,01 p_{2-4} = 0,04 p_{1-3} = 0,008
СРБ, мг/мл	2,3 ± 1,76	3,4 ± 1,18	2,6 ± 1,98	3,6 ± 2,28	p_{2-3} = 0,06
IgA, мг/дл	175,40 ± 67,37	141,5 ± 41,98	135,8 ± 54,66	100,3 ± 15,02	p_{1-4} = 0,0001 p_{2-4} = 0,003 p_{3-4} = 0,008 p_{1-3} = 0,01
IgM, мг/дл	134,26 ± 55,35	97,6 ± 43,39	104,4 ± 31,97	83,1 ± 23,63	p_{1-4} = 0,002 p_{3-4} = 0,008 p_{1-3} = 0,01
IgG, мг/дл	1455,6 ± 614,85	1214,5 ± 104,80	1174,8 ± 234,21	915,2 ± 181,83	p_{1-4} = 0,0001 p_{2-4} = 0,00002 p_{3-4} = 0,0007 p_{1-3} = 0,02

стандартным набором показателей, позволяющим охарактеризовать функциональное состояние основных органов и систем организма.

Как следует из данных, представленных в табл. 2, в группе лиц с ХГС, ХГВ и РП наблюдалось значимое изменение определяемых биохимических параметров крови.

Оценка уровней триглицеридов (структурная и энергетическая функция) в исследуемых группах пациентов с ХГС показала увеличение их концентрации в сравнении с аналогичным показателем в контрольной группе (на 56,3 %, p = 0,001), а также в группе пациентов с РП (p = 0,009), что может быть связано с их участием в развитии воспалительного и опухолевого процессов. Вирусный антиген, вероятно, усиливает сдвиг параметров липидного обмена, происходящий при развитии опухоли, и связан со стимулирующим влиянием избытка катехоламинов на клетки жировой ткани. Можно предположить, что длительный хронический контакт с вирусной ДНК/РНК сопровождается активацией как адаптационных, так и повреждающих процессов. Одним из вероятных механизмов является перестройка энергетического обеспечения специфических компонентов долговременной адаптации на начальных этапах, которая обеспечивается преимущественно активацией катаболических реакций, вслед за которыми могут развиваться анаболические процессы.

Показатели холестерола в сыворотке крови у лиц, находящихся в контакте с ДНК HBV, РНК HCV, и у лиц с РП не отличались от контроля ($p > 0,05$).

Концентрация глюкозы крови у лиц с ХГВ достоверно снижалась в сравнении с таковой в контрольной группе (p = 0,001), в то время как у лиц с РП она была в 1,7–1,8 раза выше, чем во всех исследуемых группах ($p < 0,002$).

Повышение уровня ферментов (трансаминаз) отмечено во всех группах. В частности, активность АлАТ была на 64,2–83,7 % выше, чем в контрольной группе ($p < 0,02$). Следует отметить, что наибольший рост АлАТ наблюдался у пациентов с ХГВ. Полагаем, что увеличение активности индикаторного фермента в крови в данной группе было сопряжено с уменьшением стабильности клеточных мембран и повышением их проницаемости на фоне активации глюкозаланинового шунта. Аналогичные сдвиги произошли и в отношении АсАТ – внутриклеточного фермента, присутствующего как в цитоплазме, так и в митохондриях и обеспечивающего поступление ацетила-КоА в цикл трикарбоновых кислот. Установлено, что у лиц с ХГС, ХГВ и РП активность АсАТ была на 23,5–123,3 % выше, чем в контрольной группе ($p < 0,02$), причем наибольший рост АсАТ установлен также у лиц с ХГВ.

Показатели мочевины заметно не изменились, несмотря на снижение уровня при ХГС на 13,4 % относительно контроля (p = 0,04), что было в пределах нормы. Уровень креатинина во всех исследуемых группах был ниже контрольных значений (p < 0,03), наименьшие его показатели отмечались у пациентов с ХГС (на 24,7 %).

Маркер повреждения тканей, каким является ЛДГ, принимающий участие в реакциях гликолиза и катализирующий превращение лактата в пируват у пациентов с ХГС, был на 19,7 % выше, чем у здоровых лиц (p = 0,002).

При ХГС, ХГВ и РП зафиксирован значительный рост (в 6,9–9,0 раза) показателя ЩФ (p = 0,00001).

Концентрация общего белка была ниже контрольных значений на 13,5 % (p = 0,004) во всех группах, за исключением группы лиц с ХГС (p = 0,73). Уровень альбумина, синтезирующегося в печени и составляющего до 80 % всех сывороточных белков, при ХГС был на 11,6 % ниже, чем у здоровых лиц (p = 0,006).

Содержание общего билирубина, максимальные значения которого отмечены у лиц с РП, при ХГС, ХГВ и РП было в 4,75 раза выше, чем у лиц здоровой популяции (p < 0,003).

У лиц с ХГВ и РП активность ГГТП была выше более чем в 2 раза, чем в контроле (p < 0,01), и более чем в 6,7 раза, чем у пациентов с ХГС (p = 0,004).

Как и уровень кальция, активность альфа-амилазы у лиц с ХГС, ХГВ и РП увеличивалась в сравнении с контролем (p = 0,004, p = 0,001 и p = 0,002 соответственно).

Высокое в сравнении с группой контроля содержание железа установлено только у пациентов с ХГВ (p = 0,02). При оценке концентрации магния в крови при ХГС, ХГВ, РП установлен его дефицит более чем в 1,3 раза (p < 0,03) в сравнении с контрольными значениями. Концентрация фосфора в крови увеличивалась при ХГС по сравнению с контролем (p = 0,002), а при ХГВ, наоборот, наблюдался дефицит фосфора (p = 0,04).

Уровень СРБ, относящегося к белкам острой фазы, в крови обследуемых лиц не имел достоверных отличий от значений контрольной группы (p = 0,06).

Установлено, что у лиц с ХГС, ХГВ и РП классы IgA, IgM и IgG имели более высокую концентрацию, чем в контрольной группе (p < 0,008), что можно объяснить усилением гуморальной реакции в процессе трансформации инфекционного процесса в онкологический.

Таким образом, нами показано, что биохимические параметры крови (индикаторные ферменты, креатинин, билирубин, альбумин, триглицериды, ГГТП, биоэлементы и иммуноглобулины) у пациентов с РП, ХГС и ХГВ были существенно изменены относительно показателей контрольной группы, что свидетельствовало о существенных нарушениях функционального состояния печени и смежных органов. Относительно стабильными оказались показатели общего белка, мочевины, холестерола, ЛПВП, ЛПНП и железа.

Оценка биохимических параметров крови с носительством вирусной ДНК/РНК позволила установить следующие корреляционные зависимости (p < 0,05):

группа лиц с ХГС: HPV (31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59) и общий белок (r = 0,363); HPV (31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59) и триглицериды (r = 0,410); HPV (31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59) и ЛДГ (r = 0,394); HPV (31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59) и IgM (r = 0,394); HPV (31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59) и IgG (r = 0,409); HHV6 и ЛДГ (r = 0,380); HHV6 и железо (r = 0,402);

группа лиц с ХГВ: HSV1/2 и щелочная фосфатаза (r = 0,414); CMV и железо (r = 0,401); HPV (31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59) и мочевина (r = 0,448); HPV (31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59) и IgG (r = 0,393); HHV6 и альфа-амилаза (r = 0,385); HHV6 и кальций (r = 0,427); HHV6 и IgM (r = 0,385);

группа лиц с РП: HPV (31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59) и альфа-амилаза (r = 0,555); HPV (31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59) и кальций (r = 0,469); HPV (31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59) и магний (r = 0,415); HPV (31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59) и IgG (r = 0,460); HPV (31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59) и АсАТ (r = 0,409); EBV и общий белок (r = 0,389); EBV и холестерол (r = 0,426); HHV6 и общий билирубин (r = 0,504); HHV6 и щелочная фосфатаза (r = 0,506); HHV6 и кальций (r = 0,499); HHV6 и СРБ (r = 0,533); HHV6 и IgM (r = 0,474); HHV6 и IgG (r = 0,413); CMV и общий билиру-

бин (r = 0,718); CMV и креатинин (r = 0,427); CMV и и IgM (r = 0,501); CMV и АлАТ (r = 0,561); CMV и ЛДГ (r = 0,671);

группа здоровых лиц: HPV (31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59) и АлАТ (r = 0,378); HPV (31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59) и АсАТ (r = 0,420); HPV (31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59) и ЩФ (r = 0,421); HPV (31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59) и ЛДГ (r = 0,406); HPV (31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59) и фосфор (r = 0,380); HPV (31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59) и IgA (r = 0,453); HSV1/2 и ЛПНП (r = 0,471); HSV1/2 и IgA (r = 0,373); HSV1/2 и IgG (r = 0,363); CMV и общий билирубин (r = 0,931); CMV и креатинин (r = 0,358); VEB и альфа-амилаза (r = 0,427); VEB и АсАТ (r = 0,379); VEB и АлАТ (r = 0,356); HHV6 и АлАТ (r = 0,364); HHV6 и АсАТ (r = 0,466); HHV6 и фосфор (r = 0,397); HHV6 и СРБ (r = 0,404).

Таким образом, между вирусами и биохимическими параметрами в исследуемых группах установлены достоверные зависимости, причем наибольшее значение, с позиции биохимической зависимости метаболизма от вирусного присутствия при РП, имели VEB, HPV и HHV6.

Заключение. Развитие РП сопровождается значительными биохимическими изменениями, причиной которых являются ДНК/РНК вирусы, длительно персистирующие в большинстве органов пациента, в первую очередь в печени.

Характер биохимических сдвигов и нарушений у пациентов с РП указывает на патологический синергизм при формировании ведущих патогенетических синдромов в печени (цитолитического, холестатического и мезенхимально-воспалительного), в результате чего дополнительно происходит развитие иммунных и аутоиммунных сдвигов, в манифестации которых основная роль принадлежит инфекционному (ДНК/РНК вирусов), а затем и онкологическому процессу.

Среди широкого спектра ДНК/РНК вирусов, выявляемых при РП, преимущественное значение имеют наиболее часто верифицируемые в ткани опухоли вирусы (VEB, CMV и HHV6), формирующие стойкие биохимические изменения.

Установленные признаки метаболических изменений в крови при вирус-ассоциированном РП требуют проведения тщательного мониторирования инфекционного процесса на предмет применения ранней противовирусной терапии и коррекции биохимических нарушений, способствующих прогрессированию основной патологии. Наиболее важными биохимическими маркерами повреждения органа при РП являются показатели ферментов (АсАТ, АлАТ, ЩФ, ЛДГ, альфа-амилазы), билирубина, креатинина, альбумина, триглицеридов, ГГТП, микроэлементов (биогенных – магния, фосфора, кальция).

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Благодарности. Исследование проведено при финансовой поддержке гранта Президента Республики Беларусь.

Acknowledgements. The study was financially supported by the grant of the President of the Republic of Belarus.

Список использованных источников

1. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries / H. Sung [et al.] // Am. Cancer Soc. CA Cancer J. Clin. – 2021. – Vol. 71, N 3. – P. 209–249. https://doi.org/10.3322/caac.21660

2. Globocan 2020 – Global Cancer Observatory [Electronic resource]. – Mode of access: https://gco.iarc.fr/today/data/factsheets/cancers/39-All-cancers-fact-sheet.pdf. – Date of access: 21.02.2024.

3. Global burden of cancers attributable to infections in 2012: a synthetic analysis / M. Plummer [et al.] // Lancet Glob. Health. – 2016. – Vol. 4, N 9. – P. 9–16. https://doi.org/10.1016/s2214-109x(16)30143-7

4. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries / F. Bray [et al.] // CA Cancer J. Clin. – 2018. – Vol. 68, N 6. – P. 394–424. https://doi.org/10.3322/caac.21492

5. Кузнецов, О. Е. Вирус-ассоциированный гепатоцеллюлярный рак печени / О. Е. Кузнецов, В. М. Цыркунов // Гепатология и гастроэнтерология. – 2021. – Т. 5, № 1. – С. 17–24.

6. Статистика онкологических заболеваний в Республике Беларусь (2008–2017) / А. Е. Океанов [и др.]; под ред. О. Г. Суконко. – Минск: Респ. науч.-практ. центр онкологии и мед. радиологии, 2018. – 284 с.

7. Рак в Беларуси: цифры и факты. Анализ данных Белорусского канцер-регистра за 2010–2019 гг. / А. Е. Океанов [и др.]; под ред. С. Л. Полякова. – Минск: Респ. науч.-практ. центр онкологии и мед. радиологии, 2020. – 298 с.

8. Challenges in liver cancer and possible treatment approaches / D. Anwanwan [et al.] // Biochim. Biophys. Acta – Rev. Cancer. – 2020. – Vol. 1873, N 1. – Art. 188314. https://doi.org/10.1016/j.bbcan.2019.188314

9. Gür, T. Tumor markers and biochemical parameters in colon cancer patients before and after chemotherapy / T. Gür, H. Demir, M. Ç. Kotan // Asian Pac. J. Cancer Prev. – 2011. – Vol. 12, N 11. – P. 3147–3150.

10. The diagnostics of colorectal cancer / M. Swiderska [et al.] // Contemp. Oncol. (Pozn.). – 2014. – Vol. 18, N 1. – P. 1–6. https://doi.org/10.5114/wo.2013.3999

11. Biomarkers associated with survival and favourable outcome of radioembolization with yttrium-90 glass microspheres for colon cancer liver metastases: Single centre experience / E. M. Triviño-Ibáñez [et al.] // Rev. Esp. Med. Nucl. Imagen Mol. (Engl. ed.). – 2022. – Vol. 41, N 4. – P. 231–238. https://doi.org/10.1016/j.remnie.2021.08.001

12. Dik, B. Protective effect of nerium oleander distillate and tarantula cubensis alcoholic extract on cancer biomarkers in colon and liver tissues of rats with experimental colon cancer / B. Dik, D. Coskun, A. Er // Anti-cancer Agents Med. Chem. – 2022. – Vol. 22, N 10. – P. 1962–1969. https://doi.org/10.2174/1871520621666210903120253

13. Morson, B. C. Invasion of veins by carcinoma of rectum: method of detection, histological features and significance / B. C. Morson // Materia Med. Polona. – 1981. – Vol. 13, N 2. – P. 85–92.

14. Кузнецов, О. Е. Лабораторные исследования в клинике: учеб. пособие / О. Е. Кузнецов, С. А. Ляликов. – 2-е изд., стер. – СПб.: Лань, 2023. – 500 с.

References

1. Sung H., Ferlay J., Siegel R. L., Laversanne M., Soerjomataram I., Jemal A., Bray F. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer Journal for Clinicians*, 2021, vol. 71, no. 3, pp. 209–249. https://doi.org/10.3322/caac.21660

2. Globocan 2020 – Global Cancer Observatory. Available at: https://gco.iarc.fr/today/data/factsheets/cancers/39-All-cancers-fact-sheet.pdf (accessed 21.02.2024).

3. Plummer M., de Martel C., Vignat J., Ferlay J., Bray F., Franceschi S. Global burden of cancers attributable to infections in 2012: a synthetic analysis. *Lancet Global Health*, 2016, vol. 4, no. 9, pp. 9–16. https://doi.org/10.1016/s2214-109x(16)30143-7

4. Bray F., Ferlay J., Soerjomataram I., Siegel R. L., Torre L. A., Jemal A. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer Journal for Clinicians*, 2018, vol. 68, no. 6, pp. 394–424. https://doi.org/10.3322/caac.21492

5. Kuznecov O. E., Tsyrkunov V. M. Virus-associated hepatocellular liver cancer. *Gepatologiya i gastroenterologiya* [Hepatology and gastroenterology], 2021, vol. 5, no. 1, pp. 17–24 (in Russian).

6. Okeanov A. E., Moiseev P. I., Levin L. F., Evmenenko A. A., Sukonko O. G. *Statistics of cancer diseases in the Republic of Belarus (2008–2017)*. Minsk, Republican Scientific and Practical Center of Oncology and Medical Radiology, 2018. 284 p. (in Russian).

7. Okeanov A. E., Moiseev P. I., Levin L. F., Evmenenko A. A., Ipatii T. B., Polyakov S. L. *Cancer in the Belarus: numbers and facts. Analysis of data from the Belarusian Cancer Registry for 2010–2019*. Minsk, Republican Scientific and Practical Center of Oncology and Medical Radiology, 2020. 298 p. (in Russian).

8. Anwanwan D., Singh S. K., Singh S., Saikam V., Singh R. Challenges in liver cancer and possible treatment approaches. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Reviews on Cancer*, 2020, vol. 1873, no. 1, art. 188314. https://doi.org/10.1016/j.bbcan.2019.188314

9. Gür T., Demir H., Kotan M. Ç. Tumor markers and biochemical parameters in colon cancer patients before and after chemotherapy. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 2011, vol. 12, no. 11, pp. 3147–3150.

10. Swiderska M., Choromańska B., Dąbrowska E., Konarzewska-Duchnowska E., Choromańska K., Szczurko G., Myśliwiec P., Dadan J., Ladny J. R., Zwierz K. The diagnostics of colorectal cancer. *Contemporary Oncology* (Pozn.), 2014, vol. 18, no. 1, pp. 1–6. https://doi.org/10.5114/wo.2013.3999

11. Triviño-Ibáñez E. M., Moreno P. P., Dopazo J. J. C., Ramos-Font C., Villaverde G. R., González-Flores E., Navarro Vergara P. F., Rashki M., Gómez-Río M., Rodríguez-Fernández A. Biomarkers associated with survival and favourable outcome of radioembolization with yttrium-90 glass microspheres for colon cancer liver metastases: Single centre experience. *Revista Española de Medicina Nuclear e Imagen Molecular* (Engl. ed.), 2022, vol. 41, no. 4, pp. 231–238. https://doi.org/10.1016/j.remnie.2021.08.001

12. Dik B., Coskun D., Er A. Protective Effect of nerium oleander distillate and tarantula cubensis alcoholic extract on cancer biomarkers in colon and liver tissues of rats with experimental colon cancer. *Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry*, 2022, vol. 22, no. 10, pp. 1962–1969. https://doi.org/10.2174/1871520621666210903120253

13. Morson B. C. Invasion of veins by carcinoma of rectum: method of detection, histological features and significance. *Materia Medica Polona*, 1981, vol. 13, no. 2, pp. 85–92.

14. Kuznetsov O. E., Lyalikov S. A. *Laboratory research in the clinic: a textbook. 2nd ed*. Saint Petersburg, Lan' Publ., 2023. 500 p. (in Russian).

Информация об авторах

Кузнецов Олег Евгеньевич – канд. биол. наук, доцент, директор. Институт биохимии биологически активных соединений НАН Беларуси» (пл. Ан. Тызенгауза, 7, 230023, г. Гродно, Республика Беларусь). https://orcid.org/0000-0002-1348-8688. E-mail: olegkuznetsov@inbox.ru

Цыркунов Владимир Максимович – д-р мед. наук, профессор. Гродненский государственный медицинский университет (ул. Горького, 80, 230009, г. Гродно, Республика Беларусь). https://orcid.org/0000-0002-9366-6789. E-mail: tvm111@mail.ru

Ершова Марина Владимировна – заведующий лабораторией. Гродненская университетская клиника (бульв. Ленинского комсомола, 52, г. Гродно, Республика Беларусь).

Парай Ирина Леонидовна – врач клин. лаб. диагностики. Гродненская университетская клиника (бульв. Ленинского комсомола, 52, г. Гродно, Республика Беларусь).

Information about the authors

Aleh E. Kuzniatsou – Ph. D. (Biol.), Associate Professor, Director. Institute of Biochemistry of Biologically Active Compounds of the National Academy of Sciences of Belarus (7, An. Tyzenhauz Sq., 230023, Grodno, Republic of Belarus). https://orcid.org/0000-0002-1348-8688. E-mail: olegkuznetsov@inbox.ru

Vladimir M. Tsyrkunov – D. Sc. (Med.), Professor. Grodno State Medical University (80, Gorky Str., 230009, Grodno, Republic of Belarus). https://orcid.org/0000-0002-9366-6789. E-mail: tvm111@mail.ru

Marina V. Ershova – Head of the Laboratory. Grodno University Clinic (52, Lenin Komsomol Boulevard, Grodno, Republic of Belarus).

Irina L. Parai – doctor of clinical laboratory diagnostics. Grodno University Clinic (52, Lenin Komsomol Boulevard, Grodno, Republic of Belarus).

ISSN 1814-6023 (Print)
ISSN 2524-2350 (Online)
УДК 577.122.38
https://doi.org/10.29235/1814-6023-2024-21-3-251-264

Поступила в редакцию 18.03.2022
Received 18.03.2022

М. С. Чумаченко[1], Е. О. Корик[1], С. Н. Рябцева[2], И. В. Семак[1]

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

ПУЛ СВОБОДНЫХ АМИНОКИСЛОТ И ИХ ПРОИЗВОДНЫХ В КОЖЕ КРЫС И МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ СТРУКТУРА КОЖИ ПРИ ОСТРОМ АЛЛЕРГИЧЕСКОМ КОНТАКТНОМ ДЕРМАТИТЕ

Аннотация. Проведена оценка содержания свободных аминокислот в коже крыс при экспериментальном остром аллергическом контактном дерматите (АКД). Концентрацию аминокислот (АК) определяли методом обращенно-фазной высокоэффективной жидкостной хроматографии. Острый АКД моделировали с применением 2,4-динитрохлорбензола.

В образцах кожи крыс при развитии острого АКД выявлено повышение уровней аспарагиновой и глутаминовой кислот, валина, лейцина, фенилаланина, лизина и таурина и снижение содержания метионина, тирозина, триптофана, α-аминомасляной кислоты, ансерина. О дисбалансе метаболизма аминокислот свидетельствовало повышение соотношения аминокислоты с разветвленной углеродной цепью/ароматические аминокислоты за счет снижения уровня ароматических аминокислот. Повышение соотношения Phe/Tyr указывало на снижение активности гидроксилазного пути метаболизма фенилаланина, а снижение соотношения Met/Tau являлось следствием активации метаболизма серосодержащих аминокислот в коже крыс. При этом только в коже крыс с острым АКД уровни валина, изолейцина и лизина отрицательно коррелировали с уровнем TNF-1α крови, что подтверждает их противовоспалительный эффект.

При гистологическом исследовании выявлена воспалительная реакция, проявляющаяся лимфоцитарной инфильтрацией различных слоев кожи (эпидермис, субэпидермальный слой). В субэпителиальных отделах отмечались периваскулярная пролиферация фибробластов, формирование субэпидермального фиброза. Верхний слой шиповатого слоя был некротизирован, а в зернистом слое наблюдались некроз и выраженный кариопикноз ядер. Толщина эпидермиса была увеличена, а внедрение лимфоцитов и сегментоядерных нейтрофилов в эпидермис отмечалось до клеток шиповатого слоя.

Полученные данные свидетельствуют о выраженном метаболическом дисбалансе аминокислот в коже крыс при остром АКД, проявляющемся в обеднении аминокислотного пула за счет ароматических и серосодержащих аминокислот, нарушении метаболизма фенилаланина, а также в повышении уровня иммуногенных аминокислот, играющих функциональную роль в регуляции противовоспалительной, антиоксидантной систем и пролиферативной активности клеток иммунной системы на фоне выраженного воспалительного процесса.

Ключевые слова: свободные аминокислоты, высокоэффективная жидкостная хроматография, морфологическая структура кожи, острый аллергический контактный дерматит

Для цитирования: Пул свободных аминокислот в коже крыс и морфологическая структура кожи при остром аллергическом контактном дерматите / М. С. Чумаченко [и др.] // Вес. Нац. акад. навук Беларусі. Сер. мед. навук. – 2024. – Т. 21, № 3. – С. 251–264. https://doi.org/10.29235/1814-6023-2024-21-3-251-264

Maria S. Chumachenko[1], Elena O. Korik[1], Svetlana N. Rjabceva[2], Igor V. Semak[1]

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

FREE AMINO ACID POOL IN THE RAT SKIN AND THE SKIN MORPHOLOGICAL STRUCTURE IN ACUTE ALLERGIC CONTACT DERMATITIS

Abstract. The concentration of free amino acids in the skin of rats in experimental acute allergic contact dermatitis (ACD) was studied. Free AAs were determined by reverse-phase high-performance liquid chromatography. Acute ACD was simulated using 2.4-dinitrochlorobenzene. The levels of asparagic and glutamic acids, valine, leucine, phenylalanine, lysine, and taurine increased and methionine, tyrosine, tryptophan, α-aminobutyric acid and anserine decreased in the rat skin during acute ACD development. An imbalance of amino acid metabolism was expressed in an increase in the ratio of aromatic amino acids/branched-chain amino acids by a decrease in the sum of aromatic amino acids. An increase in the Phe/Tyr ratio may indicate a decrease in the activity of the hydroxylase pathway of phenylalanine metabolism in the rat skin. Only in the skin of rats with acute ACD, the levels of valine, isoleucine and lysine were negatively correlated with the level of blood TNF-1α, which confirms their anti-inflammatory effect.

Histological examination revealed an inflammatory reaction expressed by lymphocytic infiltration of various skin layers (ectoderm, subepidermal layer). Perivascular proliferation of fibroblasts and formation of subepidermal fibrosis were observed in subepithelial sections. The upper layer of the thorny layer was necrotic, the granular layer with necrosis and pronounced karyopiknosis of nuclei was observed. The epidermis thickness increased, infiltration of lymphocytes and segmented neutrophils into epidermis was noted up to the cells of the thorny layer (exocytosis).

The data obtained indicate a significant metabolic imbalance of amino acids in the skin of rats in acute ACD, manifested by depletion of the amino acid pool of aromatic and sulfur-containing amino acids, impaired metabolism of phenylalanine, as well as increased levels of immunogenic amino acids that play a functional role in the regulation of anti-inflammatory, antioxidant system and proliferative activity of immune system cells on the background of a significant inflammatory process.

Keywords: free amino acids, high performance liquid chromatography, skin morphology, acute allergic contact dermatitis

For citation: Chumachenko M. S., Korik E. O., Rjabceva S. N., Semak I. V. Free amino acid pool in the rat skin and the skin morphological structure in acute allergic contact dermatitis. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya medytsynskikh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2024, vol. 21, no. 3, pp. 251–264 (in Russian). https://doi.org/10.29235/1814-6023-2024-21-3-251-264

Введение. Кожные болезни относятся к числу наиболее распространенных заболеваний человека. Согласно данным Всемирной организации здравоохранения, свыше 20 % всего населения Земли страдают заболеваниями кожных покровов.

Среди множества заболеваний кожи особое значение для клинической дерматологии имеют дерматиты – воспалительные поражения кожи, возникающие в результате воздействия на нее раздражающих факторов химической, физической или биологической природы. Дерматиты относятся к числу наиболее часто встречающихся заболеваний кожи: атопическим дерматитом страдают 10–20 % детей и до 3 % взрослых, причем в последние десятилетия отмечается возрастание заболеваемости, особенно у жителей городов [1]. Показано, что около 27 % от общей численности европейского населения чувствительны по меньшей мере к одному контактному аллергену [2]. Большую часть контактных аллергенов представляют широко распространенные в быту соединения (металлы, ароматизаторы, краски для волос, консерванты и т. д.). Среди профессиональных кожных заболеваний около 90 % приходится на контактный дерматит, в том числе аллергической природы [3], которым страдают от 2 до 10 % населения Земли.

Пул свободных аминокислот представляет своеобразную динамическую систему, которая формируется как за счет поступления аминокислот извне, так и в результате их эндогенного синтеза, транспорта, катаболизма, выведения и протеолитической деградации белков. Характер формирования фонда аминокислот в тканях и физиологических жидкостях фактически является одним из интегральных показателей метаболического баланса и может отражать состояние основных обменных процессов при конкретном заболевании. В последние годы получены убедительные данные о возможности использования метаболомного профилирования аминокислот в качестве диагностического инструмента в случае диабета, сердечно-сосудистых заболеваний, включая цереброваскулярные [4–6].

Ввиду отсутствия единого мнения о патогенезе аллергического контактного дерматита (АКД) представляется актуальным изучение метаболических изменений в коже. Активация метаболизма аминокислот в острой фазе АКД предполагает их участие в запуске воспалительных, аллергических, а также защитных реакций, что важно для расширения представлений о регуляторных эффектах аминокислот в механизмах развития данного заболевания [7]. Накоплен достаточно большой объем информации, свидетельствующий о потенциальной роли аминокислот в регуляции процессов, которые вносят существенный вклад в патогенез заболеваний кожи [8, 9]. Вместе с тем статус пула свободных аминокислот при заболеваниях кожи до сих пор не изучен. Очевидно, что анализ соотношения эндогенных уровней аминокислот и закономерностей формирования их метаболического профиля позволит не только идентифицировать метаболические маркеры патологии, но и создать основу для разработки новых алгоритмов метаболической коррекции при заболеваниях кожи.

Цель работы – исследование пула свободных аминокислот и их производных в коже крыс, а также морфологической структуры кожи при индуцированном остром аллергическом контактном дерматите.

Материалы и методы исследования. Эксперимент выполнен на самцах крыс линии Wistar (n = 21) массой 280–300 г, содержавшихся в стандартных условиях вивария и получавших полноценный рацион питания. Все опыты проводили в соответствии с этическими нормами обращения с животными, а также с правилами выполнения работ с использованием лабораторных животных в научных исследованиях, обоснованными рекомендациями и требованиями Всемирного общества защиты животных и Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях (Страсбург, 1986).

АКД моделировали общепринятым способом, в качестве аллергена использовали 2,4-динитрохлорбензол (2,4-ДНХБ) (Alfa Aesar, США) [10]. Эмульсию 2,4-ДНХБ (1,5 %) в смеси ацетон : оливковое масло (4 : 1) наносили на предварительно выбритый участок кожи (3×3 см) в межлопаточной области животного 1 раз в течение 2 сут.

1 – контрольная группа 1 (интактные животные, n = 7);

2 – контрольная группа 2 (смесь ацетон : оливковое масло) (n = 7);

3 – группа с острым АКД (2,4-ДНХБ) (n = 7). Продолжительность эксперимента при моделировании острой фазы АКД составила 7 сут.

Животных подвергали декапитации утром, через 12 ч после прекращения доступа к корму; образцы кожи, содержащие эпидермис и дерму, отбирали сразу после декапитации и немедленно замораживали в жидком азоте. Образцы замороженной кожи (100 мг) измельчали механически на мелкие фрагменты (1–2 мм^2) с их последующим разрушением в 1 М растворе хлорной кислоты, содержащей внутренний стандарт (норвалин), с помощью гомогенизатора Поттера, далее – с использованием ультразвукового дезинтегратора (Bandelin SONOPULS HD3100, зонд MS73). Гомогенаты кожи центрифугировали при 15 000 g 20 мин при +4 °С, затем немедленно отобранный супернатант хранили при –18 °С, а далее его использовали для определения концентрации свободных аминокислот.

Для гистологического исследования забирали участки кожи животных (0,5 × 2,0 см) в местах воздействия и фиксировали в 10 %-м растворе формалина.

Определение концентрации аминокислот. Для количественного определения содержания свободных аминокислот использовали метод обращенно-фазной высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) с предколоночной дериватизацией аминокислот *о*-фталевым альдегидом (Sigma, США) с последующей флуориметрической детекцией полученных производных, как описано ранее [11], в собственной модификации.

Использовали жидкостный хроматограф Shimadzu LC20 PROMINENCE (Shimadzu Corporation, Япония), оснащенный системой автоматического ввода проб и флуориметрическим детектором Shimadzu RF-20A XS (Shimadzu Corporation, Япония). Хроматографическое разделение аминокислот и их производных проводили на аналитической колонке InfinityLab Poroshell 120 EC-C18, размер 4,6 × 100 мм, размер частиц 2,7 мкм, с предколонкой EC-C18, размер 4,6 × 5 мм, размер частиц 2,7 мкм (Agilent, США). Подвижная фаза В – метанол (Fisher Scientific, США) : ацетонитрил (Fisher Scientific, США) : вода – 45 : 45 : 10 % (об/об/об); подвижная фаза С – натрий-ацетатный буфер 0,15 М, pH 6,0; объем вводимой пробы – 1 мкл; температура колонки – 38 °С. Скорость подачи элюента – 1 мл/мин; детектирование по флуоресценции: 338 нм – длина волны возбуждения, 445 нм – длина волны испускания. Тип элюирования – градиентный; профиль градиента – от 5,0 до 100 % В, с изменением соотношения В/С в ходе анализа (45 мин).

Анализируемые аминокислоты идентифицировали по времени удерживания в сравнении с аутентичными аналитическими стандартами (смесь аминокислот – 0,5 мкмоль/мл, Sigma-Aldrich Cat No A9906, США). Интегрирование флуориметрического сигнала аналитов (обнаружение пиков на хроматограмме и расчет их площади) осуществляли с помощью модуля Postrun Analysis программного обеспечения Shimadzu “LabSolutions” в автоматическом режиме с использованием встроенных алгоритмов программы. Концентрации аминокислот в испытуемых образцах рассчитывали по уравнениям линейной регрессии индивидуальных градуировочных зависимостей для соответствующих аминокислот, по методу внутреннего стандарта. Аналитический диапазон определяемых концентраций аминокислот составил 5,00–400,00 мкМ.

После автоматической проводки в гистологическом вакуумном процессоре KD-NS6B (KEDEE, Китай) фрагменты кожи заливали в парафиновые блоки. С каждого объекта с помощью ротационного микротома CUT56 (Slee Medical, Германия) были сделаны гистологические срезы толщиной 3–4 мкм, которые окрашивали гематоксилином и эозином по стандартной методике. Исследование микропрепаратов и изготовление микрофотографий выполнено с помощью светового микроскопа Optec BK 5000 с цифровой камерой (Optec, Китай) при 40-, 100-, 200- и 400-кратном увеличении. На светооптическом уровне оценивали морфологические изменения кожных покровов крыс. Измерение толщины эпидермиса проводили в пяти произвольно выбранных полях зрения (с максимальными изменениями) при 200-кратном увеличении. Для морфометрической оценки параметров использовали программу анализа изображений Image J.

Концентрацию фактора некроза опухоли TNF-1α в сыворотке крови крыс определяли с помощью коммерческих наборов (Fine Test, Китай), согласно инструкции производителя.

Для всех исследованных показателей определяли базовые параметры описательной статистики, после контроля нормальности распределения – с помощью критерия Колмогорова–Смирнова. Результаты сравнения групп с помощью ANOVA-теста проверяли, используя непараметрический тест Краскела–Уоллиса. Данные представлены как среднее ± ошибка среднего (M ± m). Различия считали значимыми при $p < 0,05$. Для выявления корреляционных связей между исследуемыми показателями использовали коэффициент ранговой корреляции Спирмена (r_s). Перечисленные методы анализа данных реализованы с помощью пакета программ Statistica 12.0. Для статистической обработки морфометрических данных использовали программу Statistica 10.0.

Результаты и их обсуждение. Анализ пула свободных аминокислот кожи крыс при остром АКД выявил повышение содержания аминокислот с разветвленной углеродной цепью (BCAA) на 24,0 % ($p = 0,0175$) и снижение уровня ароматических аминокислот (AAA) на 25,7 % ($p < 0,001$) на фоне отсутствия изменения общего количества свободных аминокислот в коже (табл. 1). Коэффициент BCAA/AAA повысился в 1,7 раза ($p < 0,001$). Уровни заменимых и незаменимых аминокислот при моделировании АКД, как и содержание протеиногенных и непротеиногенных аминокислот и их соотношение, не изменились.

Таблица 1. **Концентрация свободных аминокислот и их производных (мкМ/г ткани) в коже крыс ($n = 7$) с индуцированным острым аллергическим контактным дерматитом (M ± SEM)**

Table 1. **Structure of the pool of free amino acids and their derivatives in the skin of rats ($n = 7$) with induced acute allergic contact dermatitis, μM/g tissue (M ± SEM)**

Показатель	Контроль 1	Контроль 2 (с нанесением основы)	Острый контактный дерматит
Сумма аминокислот	23,83 ± 3,33	24,46 ± 2,78	24,84 ± 3,03
Незаменимые аминокислоты	4,00 ± 0,48	4,04 ± 0,43	4,45 ± 0,59
Заменимые аминокислоты	8,08 ± 1,13	8,68 ± 1,93	8,43 ± 1,06
Ароматические аминокислоты	1,13 ± 0,08	1,11 ± 0,10	0,84 ± 0,09*
BCAA	1,29 ± 0,22	1,22 ± 0,08	1,60 ± 0,20**
Протеиногенные аминокислоты	14,28 ± 1,78	15,29 ± 2,13	15,07 ± 2,07
Непротеиногенные аминокислоты	8,48 ± 1,67	8,24 ± 1,14	8,70 ± 0,87
Протеиногенные/непротеиногенные аминокислоты	1,71 ± 0,18	1,87 ± 0,26	1,73 ± 0,14
BCAA/AAA	1,15 ± 0,22	1,10 ± 0,08	1,94 ± 0,32**
Фенилаланин/тирозин	1,23 ± 0,25	1,28 ± 0,28	3,76 ± 0,93**
Метионин/таурин	0,11 ± 0,01	0,10 ± 0,01	0,03 ± 0,003*

Примечание. Статистически достоверные различия показателей по сравнению со значениями в группе контроль 1: * – $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$.

Более 70 % пула свободных аминокислот кожи составляли 8 аминокислот из 27 исследованных: в контрольной группе – серин, глутамин, глицин, таурин, аргинин, аспарагин, ансерин, треонин; в группе «острый АКД» – таурин, серин, глицин, глутамин, аспарагин, аргинин, треонин, лизин (рис. 1). Содержание серина в коже крыс контрольной группы составляло 13 %, при остром АКД

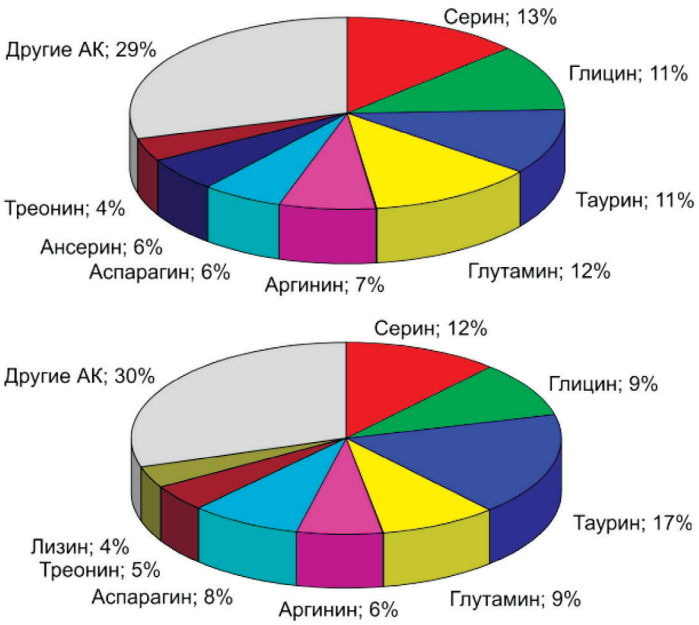


Рис. 1. Соотношение уровней свободных аминокислот в коже крыс контрольной группы (*a*) и группы с острым АКД (*b*)

Fig. 1. Ratio of free amino acid levels (%) in the skin of rats in the control group (*a*) and the ACD group (*b*)

наиболее высокие значения наблюдались у таурина (17,43 %), доля которого увеличилась более чем на 6 %.

В группе крыс с острой фазой АКД наблюдались разнонаправленные по сравнению с контрольной группой изменения концентрации свободных аминокислот и их производных (табл. 2). Обнаружено достоверное повышение концентрации в коже животных протеиногенных аминокислот: аспарагиновой (в 1,7 раза), глутаминовой (в 1,48 раза), валина (в 1,23 раза), лейцина (в 1,46 раза), фенилаланина (в 1,59 раза), лизина (в 1,36 раза) (табл. 2). Уровень таурина в коже при остром АКД превышал значения других аминокислот. В то же время ниже контрольных значений было содержание метионина, тирозина, триптофана, α-аминомасляной кислоты и ансерина. Наиболее значимо изменились уровни ААА – триптофана (в 3,37 раза) и тирозина (в 1,92 раза), а также серосодержащих – ансерина (в 2,37 раза) и метионина (в 1,95 раза). Повышение содержания свободных аминокислот в коже может быть связано с процессами протеолиза белка при развитии острого воспаления и, возможно, активного транспорта их в кожу; снижение содержания отдельных аминокислот может являться следствием активации их катаболизма в этих условиях.

Из незаменимых аминокислот при развитии острого АКД в коже повысились уровни иммуногенных аминокислот: валина, лейцина и лизина, обладающих стимулирующим действием в развитии иммунологических реакций при воспалении [12]. Снижение уровней метионина и триптофана и повышение содержания фенилаланина – следствие, соответственно, активации/снижения их метаболизма в коже при развитии воспаления. Из заменимых аминокислот можно отметить повышение содержания аспарагина, глутамина и снижение уровня тирозина.

Выявленные изменения содержания ароматических аминокислот при остром АКД коррелируют с данными литературы, согласно которым при воспалительных заболеваниях изменяется функционирование целого ряда ферментов, отвечающих за катаболизм ароматических аминокислот. Снижение уровня триптофана в коже крыс при развитии острого АКД может определяться активацией индоламин-2,3-диоксигеназы, тип 1 (IDO-1) или тип 2 (IDO-2). IDO-1 индуцируется различными воспалительными цитокинами, наиболее значимым является IFN-γ, который экспрессируется во многих клетках, таких как макрофаги, микроглия, нейроны и астроциты, а также в эпителиальных клетках и фибробластах. Повышение уровня γ-интерферона и TNF-α

Таблица 2. **Концентрации свободных аминокислот и их метаболитов (мкМ/г ткани) в коже крыс (*n* = 7) в модели индуцированного острого контактного дерматита (M ± SEM)**

Table 2. **Concentration of free amino acids and their metabolites (μM/g tissue) in the rat skin (*n* = 7) in an induced acute contact dermatitis model (M ± SEM)**

Показатель	Контроль 1	Контроль 2 (с нанесением основы)	Острый контактный дерматит
Аспарагиновая кислота	0,451 ± 0,021	0,404 ± 0,019	0,757 ± 0,051*
Глутаминовая кислота	1,394 ± 0,064	1,668 ± 0,170	2,065 ± 0,122*
Серин	3,036 ± 0,238	3,166 ± 0,404	2,891 ± 0,152
Глутамин	2,872 ± 0,239	2,864 ± 0,242	2,192 ± 0,200
Гистидин	0,542 ± 0,048	0,551 ± 0,039	0,590 ± 0,036
Цистатионин	0,335 ± 0,043	0,273 ± 0,033	0,210 ± 0,047
Глицин	2,584 ± 0,190	2,908 ± 0,172	2,313 ± 0,204
Треонин	0,927 ± 0,052	1,019 ± 0,151	1,125 ± 0,094
Цитруллин	0,280 ± 0,015	0,267 ± 0,021	0,298 ± 0,018
Аргинин	1,663 ± 0,079	2,016 ± 0,159	1,598 ± 0,171
Ансерин	1,330 ± 0,204	1,293 ± 0,186	0,559 ± 0,076*
Аланин	0,331 ± 0,040	0,278 ± 0,032	0,262 ± 0,023
Карнозин	0,803 ± 0,068	0,617 ± 0,033*	0,754 ± 0,047
Таурин	2,568 ± 0,126	2,576 ± 0,067	4,323 ± 0,120*
γ-Аминомасляная кислота	0,132 ± 0,026	0,126 ± 0,016	0,111 ± 0,025
Тирозин	0,283 ± 0,022	0,259 ± 0,009	0,147 ± 0,008*
α-Аминомасляная кислота	0,219 ± 0,027	0,287 ± 0,016	0,128 ± 0,014*
Этаноламин	0,156 ± 0,018	0,142 ± 0,008	0,175 ± 0,035
Валин	0,445 ± 0,032	0,422 ± 0,013	0,565 ± 0,024*
Метионин	0,277 ± 0,032	0,245 ± 0,019	0,142 ± 0,010*
3-Метилгистидин	0,575 ± 0,063	0,512 ± 0,054	0,681 ± 0,093
Триптофан	0,506 ± 0,014	0,519 ± 0,006	0,150 ± 0,004*
Фенилаланин	0,338 ± 0,008	0,332 ± 0,031	0,540 ± 0,033*
Изолейцин	0,505 ± 0,036	0,491 ± 0,014	0,534 ± 0,024
Лейцин	0,345 ± 0,031	0,305 ± 0,008	0,504 ± 0,035*
Орнитин	0,278 ± 0,053	0,213 ± 0,018	0,331 ± 0,027
Лизин	0,656 ± 0,048	0,704 ± 0,026	0,890 ± 0,072*

Примечание. * – достоверные различия показателей ($p < 0,05$) по сравнению со значениями в контрольной группе.

при дерматитах может приводить к индукции IDO-1. Последняя играет важную роль в иммунном ответе и определена в качестве биомаркера воспаления у людей в нескольких исследованиях. IDO-1 подавляет пролиферацию иммунных, а также опухолевых клеток за счет истощения триптофана и/или продукции биоактивных катаболитов.

Метаболизм триптофана в коже при дерматитах более изучен, чем других аминокислот. Установлено, что фаза ремиссии АКД связана с метаболизмом триптофана через кинурениновый путь [9, 13]. Содержание в коже индол-3-ацетальдегида, продукта катаболизма триптофана, при АКД снижено, а его применение уменьшает воспаление кожи у мышей с аллергическим дерматитом [13]. Аномальная индукция кинуренинового пути катаболизма триптофана в дермальных фибробластах связана с местным и системным истощением триптофана в коже при гнойном гидрадените – хроническом заболевании кожи неизвестной этиологии [14].

Хорошо известно, что фенилаланин – предшественник тирозина. Основной путь превращений фенилаланина заключается в окислении (гидроксилировании) бензольного кольца с образованием тирозина. Разнонаправленные изменения концентрации этих двух ароматических аминокислот в коже при развитии острого АКД определяются, скорее всего, снижением активности фенилаланингидроксилазы (EC 1.14.16.1). Соотношение Phe/Tyr в коже повышается в 3 раза ($p < 0,001$) в группе «острый АКД», что предполагает ингибирование гидроксилазного пути,

по-видимому, вследствие запущенных γ-интерфероном процессов генерации АФК при развитии острого воспаления, которые легко окисляют 5,6,7,8-тетрагидробиоптерин, являющийся кофактором данного фермента. Это объясняет значительное повышение уровня фенилаланина в коже в острой фазе АКД.

Уровень тирозина в коже при развитии острого АКД положительно коррелирует с содержанием гистидина, цитруллина, аланина и 3-метилгистидина, в отличие от других ароматических аминокислот, для которых не выявлено корреляции ни с одним из исследованных показателей. Тирозин представляет интерес как предшественник синтеза дофамина и меланина, которые снижают синтез провоспалительных цитокинов (включая TNF-a, IL-1b, IL-6 и IL-10) моноцитами и макрофагами, индуцируют выработку противовоспалительных медиаторов лейкоцитами и регулируют пролиферацию лимфоцитов, агрегацию тромбоцитов и фагоцитарную активность нейтрофилов.

Развитие острого АКД проявляется в нарушении метаболизма ароматических аминокислот, развитии дефицита триптофана и тирозина в коже крыс на фоне повышения уровня фенилаланина, снижение содержания которого отмечено нами в сыворотке крови этих животных (данные не опубликованы), что может быть связано с повышением его транспорта в кожу. Повышение катаболизма триптофана на фоне повышения концентрации фенилаланина и снижения уровня тирозина можно расценивать как признак повышения активности воспалительных процессов в коже, что согласуется с результатами, полученными авторами при изучении механизмов старения.

Повышение общего пула BCAA возможно из-за окисления и деградации белка в коже при развитии острого воспаления, что проявляется увеличением концентраций свободного валина (1,27 раза) и лейцина (1,46 раза), но отсутствием изменения уровня изолейцина. BCAA важны для регуляции воспалительных реакций [15], поддержания энергетического метаболизма клеток [16]. Полученные результаты согласуются с данными авторов, показавших, что повышение уровня BCAA в мозгу крыс при воспалении в условиях острой ишемии связано с окислением и деградацией белков [17]. Аминокислоты с разветвленной цепью, особенно лейцин, являются активаторами мишени рапамицина у млекопитающих (mTOR), который, в свою очередь, взаимодействует с несколькими сигнальными путями, участвующими в биологических механизмах действия инсулина, синтезе белка, митохондриальном биогенезе, воспалении, метаболизме липидов [15]. Показаны некоторые эффекты разветвленных аминокислот в заживлении ран кожи, но они неоднозначны [15].

Установлено, что при развитии острого АКД появляется тесная обратная взаимосвязь только уровней валина, изолейцина и лизина с концентрацией в крови TNF-1α (табл. 3). Характер этой связи может свидетельствовать о противовоспалительных свойствах данных аминокислот в коже при остром АКД. Фенилаланин и этаноламин положительно связаны с уровнем TNF-1α только

Таблица 3. **Коэффициенты ранговой корреляции Спирмена (r_s) между уровнем фактора некроза опухоли (TNF-1α) в крови и концентрацией свободных аминокислот в коже крыс**

Table 3. **Spearman rank correlation coefficients (r_s) between the level of the tumor necrosis factor (TNF-1α) in blood and concentrations of free amino acid levels in the rat skin**

Показатель	Контроль 1	Острый контактный дерматит
Аланин	0,711	– 0,708
Валин	–	– 0,841
Фенилаланин	0,771	–
Этаноламин	0,866	–
Изолейцин	–	– 0,953
Лизин	–	– 0,898

Примечание. Значения r_s представлены только при $p < 0,05$.

в коже контрольной группы крыс, механизмы же данной взаимосвязи не ясны. Взаимосвязь аланина с TNF-1α изменяется: «положительная» в контроле и «отрицательная» при развитии острого АКД.

Лизин – незаменимая аминокислота, которую относят к группе иммунореактивных вместе с лейцином, аргинином, триптофаном, таурином. Данные аминокислоты регулируют синтез иммуноактивных белков и митохондриальную функцию иммунокомпетентных клеток, что повышает интенсивность развития воспалительной реакции – усиление иммунного ответа. Из вышеперечисленных аминокислот, по-видимому, иммуномодулирующую роль в коже крыс при остром АКД могут выполнять лизин и таурин (концентрация которых повышалась), поскольку в коже нами выявлен дефицит триптофана, а уровень аргинина не изменялся. При повышении в коже уровня лизина проявляются его положительные корреляционные взаимосвязи с валином ($r_s = 0,91$), лейцином ($r_s = 0,87$) и изолейцином ($r_s = 0,87$), а также с треонином ($r_s = 0,88$) и глутаминовой кислотой ($r_s = 0,87$).

Концентрация свободных серосодержащих аминокислот в коже увеличивалась при остром АКД за счет повышения уровня таурина, конечного продукта метаболизма серосодержащих аминокислот, но уровень метионина снижался в 1,95 раза, а уровень цистатионина не изменялся. Метионин, обеспечивающий процессы метилирования белков и нуклеиновых кислот, является одной из ключевых аминокислот, необходимых для иммунной активации Т-клеток [18]. Снижение уровня метионина в коже предполагает активацию его метаболизма: повышение уровня цистеина и далее таурина, что связано с развитием воспаления. Дефицит цистеина идентифицирован как фактор, ограничивающий скорость роста и пролиферации лимфоцитов, показана его роль в регуляции пролиферации Т-клеток.

В коже контрольных животных уровень Tau положительно коррелировал только с уровнем метионина ($r_s = 0,83$), что определяется их метаболической связью, но в коже крыс с острым АКД эта взаимосвязь отсутствует. В контрольной группе метионин находится в центре корреляционной сети, где проявляются его положительные взаимосвязи с гистидином ($r_s = 0,8$), цистатионином ($r_s = 0,83$), аланином ($r_s = 0,88$), карнозином ($r_s = 0,85$), таурином ($r_s = 0,83$), этаноламином ($r_s = 0,78$), лейцином ($r_s = 0,84$), изолейцином ($r_s = 0,86$) и орнитином ($r_s = 0,82$). Полное отсутствие корреляционных взаимосвязей метионина при остром АКД может быть доказательством значительных изменений его метаболизма в коже и, возможно, объясняется снижением его содержания как в коже, так и в плазме крови животных. Определенный вклад в эти нарушения вносит, по-видимому, лимфоцитарная инфильтрация кожи (результаты представлены ниже).

Таурин и его производное таурохлорамин участвуют в регуляции воспалительных процессов благодаря их способности ингибировать активность ядерного фактора κB (NF-κB), который индуцирует экспрессию провоспалительных цитокинов TNF-α, IL-6, IL-8, IL-9 и IL-33, что приводит к повышению воспалительной кожной инфильтрации и высвобождению гистамина. Помимо противовоспалительного действия, таурин может обеспечивать регуляцию развития окислительного стресса в коже, поскольку влияет на экспрессию и активность супероксиддисмутазы, каталазы и глутатионпероксидазы [19]. Таурин стимулирует эпидермальный синтез липидов и является клеточным осморегулятором, участвующим в регуляции объема клеток кожи (кератиноцитов), в связи с чем повышение его концентрации в коже и крови можно рассматривать в том числе и как адаптивный ответ на усиленную трансэпидермальную потерю воды в результате повреждения рогового слоя и водно-жировой пленки при АКД. При развитии острого АКД в коже крыс появляются новые взаимосвязи уровня таурина – с глутамином ($r_s = 0,80$), серином ($r_s = 0,76$) и α-аминомасляной кислотой ($r_s = 0,80$), которые не характерны для кожи здоровых животных. Повышение уровня таурина может определяться активными превращениями серосодержащих аминокислот и являться следствием адаптационных механизмов, проявляющихся в коже при развитии воспаления.

Уровни аспарагиновой и глутаминовой кислот в коже крыс при остром АКД превышали контрольные значения, что, возможно, связано с повышением их синтеза или с торможением утилизации в цикле трикарбоновых кислот. Эти заменимые аминокислоты могут синтезироваться в реакциях трансаминирования из промежуточных продуктов цикла Кребса – α-кетоглутарата

и оксалоацетата; их уровень может повышаться при воспалении, показано повышение уровня аспарагина в мозге крыс при моделировании острой ишемии/реперфузии [20]. Аспартат – глюкогенная аминокислота; трансаминаза конвертирует аспартат в оксалоацетат, который может быть использован в цикле трикарбоновых кислот или глюконеогенезе. Глутамат и аспартат снижают выраженность окислительного стресса, повышая активность антиоксидантных ферментов и показатели системы иммунной защиты (регулируют уровни TGF-β1, IL-10, TNF-α, IL-6 и IL-1β), оптимизируют уровни аминокислот в крови [21, 22]. Развитие воспаления при остром АКД, по-видимому, сопровождается значительными изменениями метаболизма аспартата в коже, поскольку широкая корреляционная сеть, характерная для контрольной группы (с глутамином (r_s = 0,80), гистидином (r_s = 0,86), цистатионином (r_s = 0,77), треонином (r_s = 0,86), цитруллином (r_s = 0,77), аргинином (r_s = 0,99), ансерином (r_s = 0,85), аланином (r_s = 0,76), α-аминомасляной кислотой (r_s = 0,96) и изолейцином (r_s = 0,84)), исчезает, а в группе с острым АКД проявляется корреляционная связь аспартата только с уровнем глутамата, что подтверждает тесную взаимосвязь метаболизма этих аминокислот (возможно, через реакции утилизации аммиака).

Уровень α-аминомасляной кислоты был снижен в коже крыс с контактным дерматитом в 1,7 раза по сравнению с таковым в группе контроль 1. Если рассматривать α-аминомасляную кислоту как продукт транссульфурирования, ее снижение может быть обусловлено активацией конечных реакций синтеза таурина. Выявлены положительные корреляционные связи α-аминомасляной кислоты с глутамином (r_s = 0,8) и таурином (r_s = 0,8) в группе с острым АКД. В коже крыс контрольной группы α-аминомасляная кислота коррелировала с большим количеством измеренных показателей, но эти взаимосвязи исчезали при развитии воспаления, за исключением корреляции с глутамином и появлением новой – с таурином. Глутамин рассматривается в качестве стимулятора биосинтеза коллагена в коже.

При остром АКД значительно снизилась концентрация ансерина (AnSer): если в контрольной группе уровень ансерина составлял 5,58 % от суммы аминокислот кожи, то при развитии воспаления – только 2,25 %. Ансерин – метилированное производное карнозина (возможно, его снижение связано с нарушением процессов метилирования на фоне снижения уровня метионина). Ансерин кожи крыс контрольных групп образует широкую корреляционную сеть из 13 аминокислот, в которой представлены: аспарагиновая кислота (r_s = 0,85), глутамин (r_s = 0,97), гистидин (r_s = 0,85), глицин (r_s = 0,91), треонин (r_s = 0,91), цитруллин (r_s = 0,80), аргинин (r_s = 0,88), аланин (r_s = 0,78), 3-метилгистидин (r_s = –0,80) и др. При остром АКД метаболизм ансерина значительно изменяется, о чем свидетельствуют не только снижение его содержания в коже, но и разрушение корреляционной сети (характерной для группы контроль), а также отрицательная корреляция с глутамином (r_s = –0,76), глицином (r_s = –0,80), аргинином (r_s = –0,83), этаноламином (r_s = –0,83). При остром АКД снижение синтеза ансерина может быть лимитировано низким уровнем метионина.

Содержание остальных аминокислот в коже не отличалось от контрольных значений (см. табл. 2). Корреляционные взаимосвязи для этих аминокислот, выявленные в контрольной группе, сохранялись или изменялись незначительно при остром АКД, что может свидетельствовать об отсутствии изменений их метаболизма. Наличие широких корреляционных сетей для аминокислот кожи – подтверждение четкой координации метаболизма аминокислот и их значимой регуляторной роли. Воспаление кожи при остром АКД вызывает значительные сдвиги в метаболизме аминокислот, о чем свидетельствуют изменение их уровня и нарушение корреляционных взаимодействий в контрольной группе (наиболее значимы они для лейцина, изолейцина, метионина, ансерина, аспарагина, α-аминомасляной кислоты). Нанесение основы (группа контроль 2) не влияло на изменение концентрации свободных аминокислот в коже по сравнению с группой контроль 1, но вызывало лишь незначительное снижение уровня карнозина.

Морфологические изменения в коже крыс при остром АКД. В контрольной группе крыс четко прослеживался эпидермис кожных покровов. Стратификация слоев эпидермиса была сохранена: определялся один слой базальных клеток, два-три ряда шиповатых клеток и один-два ряда клеточных пластинок зернистого слоя; весь эпидермальный пласт был сформирован четырьмя-шестью слоями клеток и покрыт умеренно выраженным роговым слоем (рис. 2, *a*, *b*). Признаков акантоза,

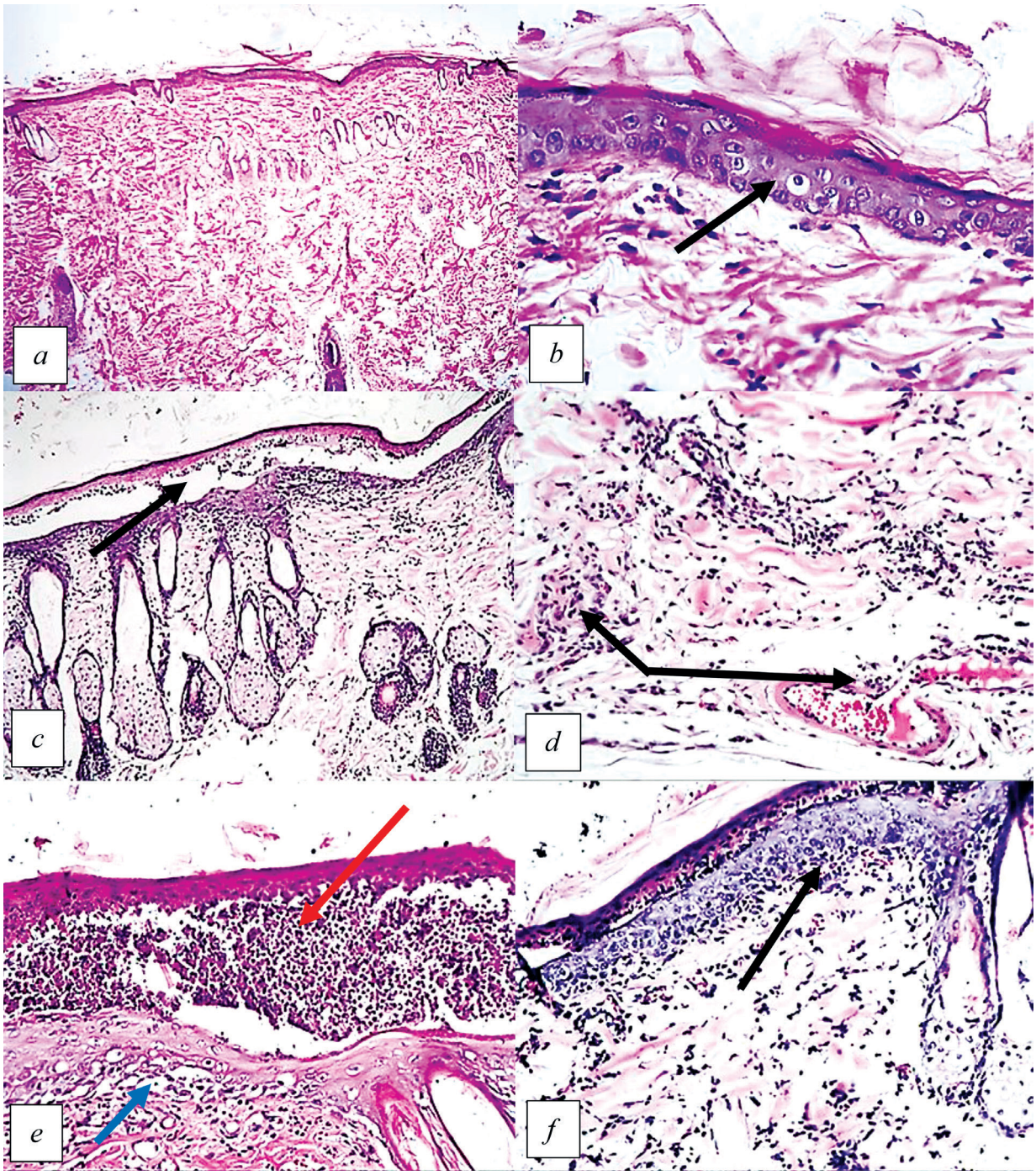


Рис. 2. Морфологическая структура кожи крыс контрольной группы (*a*, *b*) и группы животных с индуцированным острым аллергическим контактным дерматитом *(c–f)*: *a* – кожный покров крыс контрольной группы, ×40; *b* – послойное строение эпидермиса, единичные клетки шиповатого слоя с вакуольной дистрофией (стрелка), ×400; *c* – тотальная «отслойка» эпидермиса с формированием буллы (стрелка), ×100; *d* – периваскулярная инфильтрация дермы (стрелки), ×200; *e* – спонгиоз в области базального слоя (синяя стрелка), инфильтрация сегментоядерными нейтрофилами в толще эпидермиса (красная стрелка), ×200; *f* – экзоцитоз (стрелка), ×200. Окраска гематоксилином и эозином

Fig. 2. Morphological structure of the rat skin in the control group (*a*, *b*) and the group with induced acute allergic contact dermatitis (*c–f*), stained with hematoxylin and eosin: *a* – skin of control group rats, ×40; *b* – layer-by-layer structure of epidermis, single cells of the spinous layer with vacuole dystrophy (arrow), ×400; *c* – total “detachment” of epidermis with bulla formation (arrow), ×100; *d* – perivascular infiltration of derma (arrows), ×200; *e* – spongiosis in the basal layer area (blue arrow), infiltration with segmented neutrophils in the epidermis thickness (red arrow), ×200; *f* – exocytosis (arrow), ×200. Hematoxylin and eosin staining

паракератоза, акантолиза не отмечено. Границы шиповатых клеток были четко различимы, без признаков спонгиоза. В толще шиповатого слоя определялись единичные клетки с оптически пустой цитоплазмой (рис. 2, *b*). Дерма кожи была представлена рыхлой волокнистой соединительной тканью, коллагеновые волокна располагались параллельно эпидермальному пласту в поверхностных отделах дермы (субэпидермальный слой) и разнонаправленно – в глубоких зонах дермы (сетчатый слой, рис. 2, *a*). Придатки кожи были хорошо развиты. Толщина эпидермиса в данной группе составила 32,01 ± 1,02 мкм.

При микроскопическом исследовании кожи крыс в группе острого АКД выявлены отек дермы, неравномерный акантолиз как всего пласта эпидермиса, так и отдельных слоев – зернистого и рогового, а также формирование булл (рис. 2, c). Буллезная трансформация проявлялась отслойкой верхних слоев шиповатого слоя с накоплением интрадермально отечной жидкости, в которой определялась неравномерная инфильтрация лимфоцитами с примесью сегментоядерных нейтрофилов. Верхний слой шиповатого слоя был некротизирован, в зернистом слое отмечались некроз и выраженный кариопикноз ядер. В субэпителиальных отделах наблюдались увеличение количества капилляров (пролиферация сосудов), периваскулярная пролиферация фибробластов, утолщение и уплотнение расположения коллагеновых волокон дермы (формирование субэпидермального фиброза).

Воспалительная инфильтрация субэпидермальных зон умеренно выражена и состояла из лимфоцитов, единичных плазмоцитов, макрофагов с примесью сегментоядерных нейтрофилов. В глубоких отделах дермы периваскулярная воспалительная инфильтрация слабо выражена и представлена лимфоцитами и единичными макрофагами (см. рис. 2, *d*). В отдельных случаях (2 из 6) отмечалась выраженная инфильтрация буллезного пространства сегментоядерными нейтрофилами с формированием пустул (рис. 2, *e*). В сохранившихся участках эпидермиса кожи крыс наблюдалась пролиферация клеток базального и шиповатого слоев, выявлены очагово-диффузный спонгиоз и акантолиз в нижних слоях эпителиального пласта (рис. 2, *e*, *f*). Спонгиоз распространялся до середины шиповатого слоя. Вакуольная дистрофия клеток более выражена, чем в контрольной группе, границы эпидермально-дермального перехода стерты. Внедрение лимфоцитов и сегментоядерных нейтрофилов в эпидермис отмечалось до клеток шиповатого слоя (экзоцитоз) (рис. 2, *f*).

Толщина сохраненного эпидермиса при остром аллергическом контактном дерматите составляла 54,37 ± 1,28 мкм, что в 1,6 раза превышало данный показатель в контрольной группе (32,01 ± 1,02 мкм) ($p = 0{,}0001$).

Заключение. Установлено, что при экспериментальном остром АКД в коже крыс изменяется метаболизм 12 аминокислот: повышается содержание аминокислот с разветвленной углеродной цепью (валин, лейцин), а также лизина, фенилаланина, аспарагиновой и глутаминовой кислот и снижается уровень ароматических аминокислот (триптофана, тирозина), серосодержащих аминокислот – метионина, таурина, ансерина, а также α-аминомасляной кислоты. Разнонаправленные изменения уровней фенилаланина, тирозина и повышение соотношения фенилаланин/тирозин предполагает снижение активности фенилаланингидроксилазы. Активацию катаболизма триптофана на фоне повышения концентрации фенилаланина и снижения тирозина можно расценивать как признак повышения активности воспалительных процессов в коже при остром АКД. Увеличение соотношения метионин/таурин – свидетельство активации метаболизма серосодержащих аминокислот в коже, а повышение уровней таурина, валина, лейцина, а также аспарагина и глутамина, по-видимому, является проявлением защитных эффектов, учитывая их роль в регуляции иммунологических показателей, антиоксидантной системы, пролиферативной активности лимфоцитов. Только уровни валина, изолейцина и лизина в коже крыс с острым АКД отрицательно коррелировали с уровнем TNF-1α крови, что предполагает их противовоспалительный эффект в коже.

Изменения метаболизма свободных аминокислот согласуются с выявленными при микроскопическом исследовании проявлениями острого воспалительного процесса в различных слоях кожи.

Полученные результаты свидетельствуют о связи между нарушением метаболизма аминокислот в коже и развитием острой фазы АКД. Возможно, положительный эффект в нормализации метаболизма аминокислот кожи и ее структуры при лечении будут оказывать не только препараты с противовоспалительным действием, но и аминокислоты как дополнение к таким препаратам.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список использованных источников

1. Atopic eczema: genetics or environment? / B. Wüthrich [et al.] // Ann. Agric. Environ. Med. – 2007. – Vol. 14, N 2. – P. 195–201.

2. Contact allergy: A review of current problems from a clinical perspective / W. Uter [et al.] // Int. J. Environ. Res. Publ. Health. – 2018. – Vol. 15, N 6. – P. 1108. https://doi.org/10.3390/ijerph15061108

3. Minimum standards on prevention, diagnosis and treatment of occupational and work-related skin diseases in Europe – position paper of the COST Action StanDerm (TD 1206) / J. H. Alfonso [et al.] // J. Eur. Acad. Dermatol. Venereol. – 2017. – Vol. 31, suppl. 4. – P. 31–43. https://doi.org/10.1111/jdv.14319

4. Holeček, M. Branched-chain amino acids in health and disease: Metabolism, alterations in blood plasma, and as supplements / M. Holeček // Nutr. Metab. (Lond). – 2018. – Vol. 15. – Art. 33. https://doi.org/10.1186/s12986-018-0271-1

5. Plasma free amino acid profiles evaluate risk of metabolic syndrome, diabetes, dyslipidemia, and hypertension in a large Asian population / N. Yamaguchi [et al.] // Environ. Health Prev. Med. Environ. – 2017. – Vol. 22, N 1. – Art. 35. https://doi.org/10.1186/s12199-017-0642-7

6. Bi, X. Plasma-free amino acid profiles are predictors of cancer and diabetes development / X. Bi, C. J. Henry // Nutr. Diabetes. – 2017. – Vol. 7, N 3. – P. e249. https://doi.org/10.1038/nutd.2016.55

7. Blood serum metabolome of atopic dermatitis: Altered energy cycle and the markers of systemic inflammation / A. Ottas [et al.] // PLoS ONE. – 2017. – Vol. 12, N 11. – P. e0188580. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0188580

8. Serum biomarkers of allergic contact dermatitis: A pilot study / A. Zinkevičienė [et al.] // Int. Arch. Allergy Immunol. – 2015. – Vol. 168, N 3. – P. 161–164. https://doi.org/10.1159/000442749

9. A multi-omics analysis reveals metabolic reprogramming in THP-1 cells upon treatment with the contact allergen DNCB / F. Mussotter [et al.] // Toxicol. Appl. Pharmacol. – 2018. – Vol. 340. – P. 21–29. https://doi.org/10.1016/j.taap.2017.12.016

10. Simonetta, F. Animal models of contact dermatitis [Electronic resource] / F. Simonetta, C. Bourgeois // Contact Dermatitis / ed. Y. S. Ro. – Mode of access: http://dx.doi.org/10.5772/29462. – Date of access: 27.06.2024.

11. Дорошенко, Е. М. Структура пула свободных аминокислот и их производных плазмы крови у пациентов с ишемической болезнью сердца и проявлением хронической сердечной недостаточности / Е. М. Дорошенко, В. А. Снежицкий, В. В. Лелевич // Журн. Гродн. гос. мед. ун-та. – 2017. – Т. 15, № 5. – С. 551–556.

12. Functions and signaling pathways of amino acids in intestinal inflammation / F. He [et al.] // Biomed. Res. Int. – 2018. – Vol. 2018. – Art. ID 9171905. https://doi.org/10.1155/2018/9171905

13. A tryptophan metabolite of the skin microbiota attenuates inflammation in patients with atopic dermatitis through the aryl hydrocarbon receptor / J. Yu [et al.] // J. Allergy Clin. Immunol. – 2019. – Vol 143, N 6. – P. 2108–2119.e12. https://doi.org/10.1016/j.jaci.2018.11.036

14. Dysregulation of tryptophan catabolism at the host-skin microbiota interface in hidradenitis suppurativa / L. Guenin-Macé [et al.] // JCI Insight. – 2020. – Vol. 5, N 20. – P. e140598. https://doi.org/10.1172/jci.insight.140598

15. Immunomodulatory role of branched-chain amino acids / A. Bonvini [et al.] // Nutr. Rev. – 2018. – Vol. 76, N 11. – P. 840–856. https://doi.org/10.1093/nutrit/nuy037

16. Coordinated modulation of energy metabolism and inflammation by branched-chain amino acids and fatty acids / Z. Ye [et al.] // Front. Endocrinol. (Lausanne). – 2020. – Vol. 11. – P. 617. https://doi.org/10.3389/fendo.2020.00617

17. The components of Huang-Lian-Jie-Du-Decoction act synergistically to exert protective effects in a rat ischemic stroke model / Q. Zhang [et al.] // Oncotarget. – 2016. – Vol. 7. – P. 80872–80887. https://doi.org/10.18632/oncotarget.12645

18. Antigen receptor control of methionine metabolism in T cells / L. V. Sinclair [et al.] // Elife. – 2019. – Vol. 8. – P. e44210. https://doi.org/10.7554/eLife.44210

19. Marcinkiewicz, J. Taurine and inflammatory diseases / J. Marcinkiewicz, E. Kontny // Amino Acids. – 2014. – Vol. 46, N 1. – P. 7–20. https://doi.org/10.1007/s00726-012-1361-4

20. A NMR-based metabonomics approach to determine protective effect of a combination of multiple components derived from naodesheng on ischemic stroke rats / L. Luo [et al.] // Molecules. – 2019. – Vol. 24, N 9. – Art. 1831. http://doi.org/10.3390/molecules24091831

21. Glutamate and aspartate alleviate testicular/epididymal oxidative stress by supporting antioxidant enzymes and immune defense systems in boars / W. Tang [et al.] // Sci. China Life Sci. – 2020. – Vol. 63, N 1. – P. 116–124. https://doi.org/10.1007/s11427-018-9492-8

22. Dietary supplementation with L-glutamate and L-aspartate alleviates oxidative stress in weaned piglets challenged with hydrogen peroxide / J. Duan [et al.] // Amino Acids. – 2016. – Vol. 48, N 1. – P. 53–64. https://doi.org/10.1007/s00726-015-2065-3

References

1. Wüthrich B., Cozzio A., Roll A., Senti G., Kündig T., Schmid-Grendelmeier P. Atopic eczema: genetics or environment? *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*, 2007, vol. 14, no. 2, pp. 195–201.

2. Uter W., Werfel T., White I. R., Johansen J. D. Contact allergy: A review of current problems from a clinical perspective. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 2018, vol. 15, no. 6, p. 1108. https://doi.org/10.3390/ijerph15061108

3. Alfonso J. H., Bauer A., Bensefa-Colas L., Boman A., Bubas M., Constandt L. [et al.]. Minimum standards on prevention, diagnosis and treatment of occupational and work-related skin diseases in Europe – position paper of the COST Action StanDerm (TD 1206). *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology,* 2017, vol. 31, suppl. 4, pp. 31–43. https://doi.org/10.1111/jdv.14319

4. Holeček M. Branched-chain amino acids in health and disease: metabolism, alterations in blood plasma, and as supplements. *Nutrition and Metabolism*, 2018, vol. 15, art. 33. https://doi.org/10.1186/s12986-018-0271-1

5. Yamaguchi N., Mahbub M. H., Takahashi H., Hase R., Ishimaru Y., Sunagawa H. [et al.]. Plasma free amino acid profiles evaluate risk of metabolic syndrome, diabetes, dyslipidemia, and hypertension in a large Asian population. *Environmental Health and Preventive Medicine*, 2017, vol. 22, no. 1, art. 35. https://doi.org/10.1186/s12199-017-0642-7

6. Bi X., Henry C. J. Plasma-free amino acid profiles are predictors of cancer and diabetes development. *Nutrition and Diabetes*, 2017, vol. 7, no. 3, p. e249. https://doi.org/10.1038/nutd.2016.55

7. Ottas A., Fishman D., Okas T. L., Püssa T., Toomik P., Märtson A. [et al.]. Blood serum metabolome of atopic dermatitis: Altered energy cycle and the markers of systemic inflammation. *PLoS ONE*, 2017, vol. 12, no. 11, p. e0188580. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0188580

8. Zinkevičienė A., Kainov D., Lastauskienė E., Kvedarienė V., Bychkov D., Byrne M., Girkontaitė I. Serum biomarkers of allergic contact dermatitis: A pilot study. *International Archives of Allergy and Immunology*, 2015, vol. 168, no. 3, pp. 161–164. https://doi.org/10.1159/000442749

9. Mussotter F., Potratz S., Budczies J., Luch A., Haase A. A multi-omics analysis reveals metabolic reprogramming in THP-1 cells upon treatment with the contact allergen DNCB. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 2018, vol. 340, pp. 21–29. https://doi.org/ 10.1016/j.taap.2017.12.016

10. Simonetta F., Bourgeois C. Animal models of contact dermatitis. *Contact Dermatitis*. Available at: http://dx.doi.org/10.5772/29462 (acessed 27.06.2024).

11. Doroshenko E. M., Snezhitskii V. A., Lelevich V. V. Structure of the pool of free amino acids and their derivatives in plasma of patients with ishemic heart disease and chronic *Zhurnal Grodnenskogo gosudarstvennogo meditsinskogo universiteta* [Journal of Grodno State Medical University], 2017, vol. 15, no. 5, pp. 551–555 (in Russian).

12. He F., Wu C., Li P., Li N., Zhang D., Zhu Q., Ren W., Peng Y. Functions and signaling pathways of amino acids in intestinal inflammation. *BioMed Research International*, 2018, vol. 2018, art. ID 9171905. https://doi.org/10.1155/2018/9171905

13. Yu J., Luo Y., Zhu Z., Zhou Y., Sun L., Gao J., Sun J., Wang G., Yao X., Li W. A tryptophan metabolite of the skin microbiota attenuates inflammation in patients with atopic dermatitis through the aryl hydrocarbon receptor. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 2019, vol. 143, no. 6, pp. 2108–2119.e12. https://doi.org/10.1016/j.jaci.2018.11.036

14. Guenin-Macé L., Morel J. D., Doisne J. M., Schiavo A., Boulet L., Mayau V. [et al.]. Dysregulation of tryptophan catabolism at the host-skin microbiota interface in hidradenitis suppurativa. *Journal of Clinical Investigation Insight*, 2020, vol. 5, no. 20, p. e140598. https://doi.org/10.1172/jci.insight.140598

15. Bonvini A., Coqueiro A. Y., Tirapegui J., Calder P. C., Rogero M. M. Immunomodulatory role of branched-chain amino acids. *Nutrition Reviews*, 2018, vol. 76, no. 11, pp. 840–856. https://doi.org/10.1093/nutrit/nuy037

16. Ye Z., Wang S., Zhang C., Zhao Y. Coordinated modulation of energy metabolism and inflammation by branched-chain amino acids and fatty acids. *Frontiers in Endocrinology (Lausanne)*, 2020, vol. 11, no. 617. https://doi.org/10.3389/fendo.2020.00617

17. Zhang Q., Wang J., Zhang C., Liao S., Li P. [et al.]. The components of Huang-Lian-Jie-Du-Decoction act synergistically to exert protective effects in a rat ischemic stroke model. *Oncotarget*, 2016, vol. 7, no. 49, pp. 80872–80887. https://doi.org/10.18632/oncotarget.12645

18. Sinclair L., Howden A., Brenes A., Spinelli L., Hukelmann J., Macintyre A. N. [et al.]. Antigen receptor control of methionine metabolism in T cells. *Elife*, 2019, vol. 8, p. e44210. https://doi.org/10.7554/eLife.44210

19. Marcinkiewicz J., Kontny E. Taurine and inflammatory diseases. *Amino Acids*, 2014, vol. 46, no. 1, pp. 7–20. https://doi.org/10.1007/s00726-012-1361-4

20. Luo L., Kang J., He Q., Qi Y., Chen X., Wang S., Liang S. A NMR-based metabonomics approach to determine protective effect of a combination of multiple components derived from naodesheng on ischemic stroke rats. *Molecules*, 2019, vol. 24, no. 9, art. 1831. https://doi.org/10.3390/molecules24091831

21. Tang W., Wu J., Jin S., He L., Lin Q., Luo F., He X., Feng Y., He B., Bing P., Li T., Yin Y. Glutamate and aspartate alleviate testicular/epididymal oxidative stress by supporting antioxidant enzymes and immune defense systems in boars. *Science China. Life Sciences*, 2020, vol. 63, no. 1, pp. 116–124. https://doi.org/10.1007/s11427-018-9492-8

22. Duan J., Yin J., Ren W., Liu T., Cui Z., Huang X. [et al.]. Dietary supplementation with L-glutamate and L-aspartate alleviates oxidative stress in weaned piglets challenged with hydrogen peroxide. *Amino Acids*, 2016, vol. 48, no. 1, pp. 53–64. https://doi.org/10.1007/s00726-015-2065-3

Информация об авторах

Чумаченко Мария Сергеевна – ст. преподаватель. Белорусский государственный университет (пр. Независимости, 4, 220030, г. Минск, Республика Беларусь). https://orcid.org/0000-0001-5333-4109. E-mail: Chumachenkomaria19@gmail.com

Корик Елена Олеговна – канд. биол. наук, доцент. Белорусский государственный университет (пр. Независимости, 4, 220030, г. Минск, Республика Беларусь). https://orcid.org/0000-0002-7888-4518. E-mail: elkorik@gmail.com

Рябцева Светлана Николаевна – канд. мед. наук, вед. науч. сотрудник, заведующий лабораторией. Институт физиологии НАН Беларуси (ул. Академическая, 28, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). https://orcid.org/0000-0001-5960-3656. E-mail: sveta.rjabceva@tut.by

Семак Игорь Викторович – канд. биол. наук, доцент, заведующий кафедрой. Белорусский государственный университет (пр. Независимости, 4, 220030, г. Минск, Республика Беларусь). https://orcid.org/0000-0001-9430-8492. E-mail: semak@bsu.by

Information about the authors

Maria S. Chumachenko – Senior Lecturer. Belarusian State University (4, Nezavisimosti Ave., 220030, Minsk, Republic of Belarus). https://orcid.org/0000-0001-5333-4109. E-mail: Chumachenkomaria19@gmail.com

Elena O. Korik – Ph. D. (Biol.), Associate Professor. Belarusian State University (4, Nezavisimosti Ave., 220030, Minsk, Republic of Belarus). https://orcid.org/0000-0002-7888-4518. E-mail: elkorik@gmail.com

Svetlana N. Rjabceva – Ph. D. (Med.), Leading Researcher, Head of the Laboratory. Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Belarus (28, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). https://orcid.org/0000-0001-5960-3656. E-mail: sveta.rjabceva@tut.by

Igor V. Semak – Ph. D. (Biol.), Associate Professor, Head of the Department. Belarusian State University (4, Nezavisimosti Ave., 220030, Minsk, Republic of Belarus). https://orcid.org/0000-0001-9430-8492. E-mail: semak@bsu.by