



ISSN 1607-9906 (print)
ISSN 2312-4156 (online)

ВЕСТНИК

Витебского государственного медицинского университета

Рецензируемый
научно-практический журнал

Vestnik of Vitebsk State Medical University

Peer-reviewed scientific-practical journal

2017
Том 16
№2



Уважаемые коллеги!

Приглашаем вас принять участие
в Республиканской научно-практической конференции
с международным участием

«Инновационные обучающие технологии в медицине»

Конференция призвана обобщить накопленный опыт обучающихся технологий в медицине и обсудить вопросы, связанные с дальнейшим развитием непрерывного медицинского и фармацевтического образования. Планируется рассмотреть теоретические и практические пути решения дальнейшего совершенствования организации образовательного процесса, применения новых форм и технологий, а также углубления интеграции обучения и практического здравоохранения.

Место проведения:

Республика Беларусь, г. Витебск, пр. Фрунзе, 27,
главный учебный корпус УО «Витебский государственный ордена Дружбы
народов медицинский университет»

02 июня 2017 года

Участие в конференции – бесплатное.

Публикация статей:

Статьи и материалы докладов конференции будут изданы на электронных носителях с присвоением выходных сведений. Лучшие статьи будут опубликованы в журнале «Вестник ВГМУ».

Заявки на участие в конференции и выставке с указанием формы участия представлять в оргкомитет конференции:

Тел.: +375 (212) 26-10-93; e-mail: umo-vsmu@tut.by

Более подробную информацию см. на сайте университета www.vsmu.by

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ
ВИТЕБСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ

ВЕСТНИК

Витебского государственного медицинского университета

Том 16

№2

2017

ISSN 1607-9906 (print), ISSN 2312-4156 (online)

Рецензируемый научно-практический журнал. Основан в 2002 году.

Учредитель и издатель – Учреждение образования «Витебский государственный
ордена Дружбы народов медицинский университет»

Главный редактор:

Щастный Анатолий Тадеушевич – д.м.н., профессор.

Редакционная коллегия:

Алексанин С.С. – д.м.н., профессор, г.Санкт-Петербург, Россия;
Бекиш В.Я. – д.м.н., профессор, г.Витебск, Беларусь;
Бузук Г.Н. – д.ф.н., профессор, г.Витебск, Беларусь;
Бурак И.И. – д.м.н., профессор, г.Витебск, Беларусь;
Глушанко В.С. – д.м.н., профессор, г.Витебск, Беларусь;
Городецкая И.В. – д.м.н., профессор, г.Витебск, Беларусь;
Деркач Ю.Н. – д.м.н., профессор, г.Витебск, Беларусь;
Жданова О.Б. – д.б.н., профессор, г.Киров, Россия;
Жебентяев А.И. – д.ф.н., профессор, г.Витебск, Беларусь;
Кабанова С.А. – к.м.н., доцент, г.Витебск, Беларусь;
Козловский В.И. – д.м.н., профессор, г.Витебск, Беларусь;
Коневалова Н.Ю. – зам. главного редактора, д.б.н., профессор,
г.Витебск, Беларусь;
Коноров М.Р. – д.м.н., профессор, г.Витебск, Беларусь;
Косых А.А. – д.м.н., профессор, г.Киров, Россия;
Кугач В.В. – к.ф.н., доцент, г.Витебск, Беларусь;
Кунцевич З.С. – д.пед.н., доцент, г.Витебск, Беларусь;
Луд Н.Г. – д.м.н., профессор, г.Витебск, Беларусь;
Наркевич И.А. – д.ф.н., профессор, г.Санкт-Петербург, Россия;
Пиманов С.И. – д.м.н., профессор, г.Витебск, Беларусь;
Прищепа И.М. – д.б.н., профессор, г.Витебск, Беларусь;
Подпалов В.П. – д.м.н., профессор, г.Витебск, Беларусь;
Семенов В.М. – д.м.н., профессор, г.Витебск, Беларусь;
Снежицкий В.А. – д.м.н., профессор, г.Гродно, Беларусь;
Сучков И.А. – д.м.н., доцент, г.Рязань, Россия;
Сушков С.А. – к.м.н., доцент, г.Витебск, Беларусь;
Усович А.К. – д.м.н., профессор, г.Витебск, Беларусь;
Холод В.М. – д.б.н., профессор, г.Витебск, Беларусь;
Чернявский Ю.П. – к.м.н., доцент, г.Витебск, Беларусь.

Редакционный совет:

Аболмасов Н.Н. – д.м.н., профессор, г.Смоленск, Россия;
Адаскевич В.П. – д.м.н., профессор, г.Витебск, Беларусь;
Алексеев Ю.В. – к.м.н., доцент, г.Витебск, Беларусь;
Басявичюс Р.В. – д.м.н., профессор, г.Каунас, Литва;
Бяловский Ю.Ю. – д.м.н., профессор, г.Рязань, Россия;
Власов Т.Д. – д.м.н., профессор, г.Санкт-Петербург,
Россия;
Генералов И.И. – д.м.н., профессор, г.Витебск, Беларусь;
Краснюк И.И. – д.ф.н., профессор, г.Москва, Россия;
Кубилиус Р.З. – д.м.н., профессор, г.Каунас, Литва;
Кулик С.П. – к.филос.н., доцент, г.Витебск, Беларусь;
Лабанаускас Л.В. – д.м.н., профессор, г.Каунас, Литва;
Лея М.Ю. – член-корр. ЛАН, д.м.н., профессор, Латвия;
Литвяков А.М. – д.м.н., профессор, г.Витебск, Беларусь;
Лысенко И.М. – д.м.н., профессор, г.Витебск, Беларусь;
Львов А.Н. – д.м.н., профессор, г.Москва, Россия;
Маланчук В.А. – д.м.н., профессор, г.Киев, Украина;
Матлавска И. – профессор, г.Познань, Польша;
Мрочек А.Г. – д.м.н., профессор, г.Минск, Беларусь;
Мяделец О.Д. – д.м.н., профессор, г.Витебск, Беларусь;
Новиков Д.К. – д.м.н., профессор, г.Витебск, Беларусь;
Новикова В.И. – д.м.н., профессор, г.Витебск, Беларусь;
Осочук С.С. – д.м.н., доцент, г.Витебск, Беларусь;
Пискун Д.В. – к.м.н., г.Бад-Гарцбург, Германия;
Сиврев Д.П. – д.м.н., профессор, г.Стара Загора, Болгария;
Титов Л.П. – д.м.н., профессор, г.Минск, Беларусь;
Цыркунов В.М. – д.м.н., профессор, г.Гродно, Беларусь;
Чумак А.Г. – д.б.н., профессор, г.Минск, Беларусь;
Юпатов Г.И. – д.м.н., профессор, г.Витебск, Беларусь.

Секретариат:

Бебешко И.А.; Есипова Л.В.; Кадушко Р.В., к.филос.н., доцент; Ксениди И.Д., Лапусева И.Н.; Флоряну И.А., к.филос.н., доцент.

Адрес редакции: 210023, г. Витебск, пр-т Фрунзе, 27, тел. +375 (212) 26-10-93, <http://vestnik.vsmu.by>, e-mail: vestnik.vsmu@tut.by

Журнал зарегистрирован в Министерстве информации Республики Беларусь, свидетельство № 108 от 22.04.2009 г.

Журнал является членом Cross Ref и Ассоциации научных редакторов и издателей (АНРИ)

© Витебский государственный медицинский университет, 2017

Ministry of Public Health of the Republic of Belarus
Vitebsk State Medical University

VESTNIK of Vitebsk State Medical University

(Vestnik Vitebskogo Gosudarstvennogo Meditsinskogo Universiteta)

Vol. 16

No. 2

2017

ISSN 1607-9906 (print), ISSN 2312-4156 (online)

Peer-reviewed scientific-practical journal. Founded in 2002.

The founder and publisher – Educational Establishment «Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University»

Editor-in-chief:

Shchastny Anatoly Tadeushevich – PhD, MD (Medicine), professor.

Editorial board:

Aleksanin S.S. – PhD, MD (Medicine), professor, Russia;
Bekish V.Ya. – PhD, MD (Medicine), professor, Belarus;
Buzuk G.N. – PhD, MD (Pharmacy), professor, Belarus;
Burak I.I. – PhD, MD (Medicine), professor, Belarus;
Glushanko V.S. – PhD, MD (Medicine), professor, Belarus;
Gorodetskaya I.V. – PhD, MD (Medicine), professor, Belarus;
Derkach Yu.N. – PhD, MD (Medicine), professor, Belarus;
Zhdanova O.B. – PhD, MD (Biology), professor, Russia;
Zhebentyaev A.I. – PhD, MD (Pharmacy), professor, Belarus;
Kabanova S.A. – PhD (Medicine), associate professor, Belarus;
Kozlovsky V.I. – PhD, MD (Medicine), professor, Belarus;
Konevalova N.Yu. – PhD, MD (Biology), professor,
deputy editor-in-chief, Belarus;
Konorev M.R. – PhD, MD (Medicine), professor, Belarus;
Kosykh A.A. – PhD, MD (Medicine), professor, Russia;
Kugach V.V. – PhD (Pharmacy), associate professor, Belarus;
Kuntsevich Z.S. – PhD, MD (Pedagogy), associate professor, Belarus;
Lud N.G. – PhD, MD (Medicine), professor, Belarus;
Narkevich I.A. – PhD, MD (Pharmacy), professor, Russia;
Pimanov S.I. – PhD, MD (Medicine), professor, Belarus;
Prishchepa I.M. – PhD, MD (Biology), professor, Belarus;
Podpalov V.P. – PhD, MD (Medicine), professor, Belarus;
Semenov V.M. – PhD, MD (Medicine), professor, Belarus;
Snezhitskiy V.A. – PhD, MD (Medicine), professor, Belarus
Suchkov I.A. – PhD, MD (Medicine), associate professor, Russia;
Sushkov S.A. – PhD (Medicine), associate professor, Belarus;
Usovich A.K. – PhD, MD (Medicine), professor, Belarus;
Kholod V.M. – PhD, MD (Biology), professor, Belarus;
Chernyavsky Yu.P. – PhD (Medicine), associate professor, Belarus.

Editorial council:

Abolmasov N.N. – PhD, MD (Medicine), professor, Russia;
Adaskevich V.P. – PhD, MD (Medicine), professor, Belarus;
Alekseyenko Yu.V. – PhD (Medicine), associate professor, Belarus;
Basyavichus R.V. – PhD, MD (Medicine), professor, Lithuania;
Byalovsky Yu.Yu. – PhD, MD (Medicine), professor, Russia;
Vlasov T.D. – PhD, MD (Medicine), professor, Russia;
Generalov I.I. – PhD, MD (Medicine), professor, Belarus;
Krasnyuk I.I. – PhD, MD (Pharmacy), professor, Russia;
Kubilyus R.Z. – PhD, MD (Medicine), professor, Lithuania;
Kulik S.P. – PhD (Philosophy), associate professor, Belarus;
Labanauskas L.V. – PhD, MD (Medicine), professor, Lithuania;
Leya M.Yu. – PhD, MD (Medicine), professor, Latvia;
Litvyakov A.M. – PhD, MD (Medicine), professor, Belarus;
Lysenko I.M. – PhD, MD (Medicine), professor, Belarus;
Lvov A.N. – PhD, MD (Medicine), professor, Russia;
Malanchuk V.A. – PhD, MD (Medicine), professor, Ukraine;
Matlavska I. – professor, Poland;
Mrochek A.G. – PhD, MD (Medicine), professor, Belarus;
Myadelets O.D. – PhD, MD (Medicine), professor, Belarus;
Novikov D.K. – PhD, MD (Medicine), professor, Belarus;
Novikova V.I. – PhD, MD (Medicine), professor, Belarus;
Osochuk S.S. – PhD, MD (Medicine), associate professor, Belarus;
Piskun D.V. – PhD (Medicine), Germany;
Sivrev D.P. – PhD, MD (Medicine), professor, Bulgaria;
Titov L.P. – PhD, MD (Medicine), professor, Belarus;
Tsyrunov V.M. – PhD, MD (Medicine), professor, Belarus;
Chumak A.G. – PhD, MD (Biology), professor, Belarus;
Yupatov G.I. – PhD, MD (Medicine), professor, Belarus.

Secretariate:

Bebeshko I.A.; Esipova L.V.; Kadushko R.V., PhD (Philology), associate professor; Ksenidi I.D.; Lapuseva I.N.;
Floryanu I.A., PhD (Philology), associate professor.

Editorial office: 210023, Vitebsk, Frunze ave., 27, phone: (0212) 26-10-93, <http://vestnik.vsmu.by>, e-mail: vestnik.vsmu@tut.by

The journal is registered in the Ministry of Information of the Republic of Belarus, certificate of registration No 108, dated 22.04.2009.

The journal is a member of CrossRef and Association of Science Editors and Publishers.

СОДЕРЖАНИЕ

Обзор

Ненартович И.А.

Эпигенетика бронхиальной астмы: обзор литературы

Семенов В.М., Пашинская Е.С., Побяржин В.В., Субботина И.А., Шляхтун Е.А., Веремей И.С., Семенов С.В.

Иммуногистохимические и молекулярно-генетические методы диагностики онкологических заболеваний (обзор литературы)

Кирпиченко А.А., Ким И.Ю.

Психобиотики: способна ли микробиота кишечника оказывать влияние на психическое здоровье хозяина?

Гистология, цитология, эмбриология

Кварацхелия А.Г., Васянина К.А., Ключкова С.В., Атыкшин Д.А., Алексеева Н.Т., Никитюк Д.Б., Усович А.К.

Морфологическая характеристика агрегированных лимфоидных узелков тонкой кишки при моделировании некоторых факторов космического полета

Анатомия человека

Алексеева Н.Т., Усович А.К., Рожкова Е.А., Атыкшин Д.А., Кварацхелия А.Г., Ключкова С.В., Никитюк Д.Б., Гасимова Т.М.

Особенности содержания жирового компонента тела у девушек разных конституциональных групп

Патологическая физиология

Беляева Л.Е., Федченко А.Н., Лазуко С.С., Лигецкая И.В., Орехова Н.И.

Особенности нарушений NO-зависимых механизмов регуляции тонуса сосудов сердца крыс, перенесших действие стрессоров в пренатальном периоде

Внутренние болезни

Бубешко Д.А., Снежицкий В.А., Степура Т.Л.

Взаимосвязь полиморфизма C-592A гена интерлейкина-10 с уровнем интерлейкина-10 и риском развития неклапанной фибрилляции предсердий

CONTENTS

Review

7 Nenartovich I.A.

Bronchial asthma epigenetics: literature review

15 Semenov V.M., Pashinskaya E.S., Pobyarzhin V.V., Subbotina I.A., Shlyakhtunov E.A., Veremey I.S., Semenov S.V.

Immunohistochemical and molecular-genetic methods of the oncologic diseases diagnosing (literature review)

26 Kirpichenko A.A., Kim I.Y.

Psychobiotics: can gut microbiota influence host's mental health?

Histology, cytology, embryology

43 Kvaratskheliya A.G., Vasyanina K.A., Klochko S.V., Atyakshin D.A., Alexeeva N.T., Nikityuk D.B., Usovich A.K.

Morphological characteristic of the aggregated lymphoid nodules of the small intestine in the simulation of some factors of space flight

Human anatomy

51 Alexeeva N.T., Usovich A.K., Rozhkova E.A., Atyakshin D.A., Kvaratskheliya A.G., Klochko S.V., Nikityuk D.B., Gasimova T.M.

The peculiarities of the content of the body fat component in girls of different constitutional groups

Pathologic physiology

58 Belyaeva L.E., Fedchenko A.N., Lazuko S.S., Ligetskaya I.V., Orekhova N.I.

The peculiarities of disorders of NO-dependent mechanisms regulating coronary vessels tone of rats which felt the stressors effect in the prenatal period

Internal medicine

70 Bubeshka D.A., Snezhitskiy V.A., Stepuro T.L.

The relationship of interleukin-10 gene polymorphism C-592A with interleukin-10 level and the risk of nonvalvular atrial fibrillation development

Хирургия

Жилинский Е.В.

Прогнозирование сепсиса при ожоговой болезни с учетом специфических показателей

79

Surgery

Zhyliniski Y.V.

Prediction of sepsis in a burn disease with specific indices taken into account

Анестезиология и реаниматология

Яскевич В.В., Марочков А.В., Никитин С.Г., Шарф И.А.

Влияние вида анестезии на качество жизни женщин после радикальной мастэктомии

85

Anesthesiology and resuscitation

Yaskevich V.V., Marochkov A.V., Nikitin S.G., Sharf I.A.

The influence of anesthesia type on the life quality of women after radical mastectomy

Фтизиатрия

Мельник-Шеремета О. П., Островский Н.Н.

Влияние глюкозаминилмурамилпентапептида на патогенетические звенья процессов неокollaгенеза и воспаления бронхиального дерева при инфильтративном туберкулезе легких на фоне хронического бронхита

91

Phthisiology

Melnik-Sheremeta O.P., Ostrovsky N.N.

The influence of glucosaminilmuramilpentapeptide on the pathogenetic links of the processes of neocollagenesis and bronchial tree inflammation in infiltrative tuberculosis of the lungs accompanied by chronic bronchitis

Стоматология

Масюк Н.Ю., Городецкая И.В.

Тиреоидный статус и структурно-функциональная устойчивость твердых тканей зуба

97

Dentistry

Masyuk N.Y., Gorodetskaya I.V.

Thyroid status and structural and functional resistance of hard dental tissues

Карпук И.Ю.

Выявление аллергии и гиперчувствительность к диоксиду и нитриду титана у пациентов с непереносимостью стоматологических материалов

106

Karpuk I.Y.

Allergy revealing and sensitization to titanium dioxide and titanium nitride in patients with intolerance to dental materials

Новак Н.В., Байтус Н.А.

Изолирующие свойства устьевого пломбы при внутрикоронковом отбеливании зубов

113

Novak N.V., Baitus N.A.

Insulating properties of entrance seals on intracrown teeth whitening

Новости

120

News

Правила для авторов

122

Instructions for authors

ЭПИГЕНЕТИКА БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЫ: ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

НЕНАРТОВИЧ И.А.

Белорусская медицинская академия последипломного образования, г. Минск, Республика Беларусь

Вестник ВГМУ. – 2017. – Том 16, №2. – С. 7-14.

BRONCHIAL ASTHMA EPIGENETICS: LITERATURE REVIEW

NENARTOVICH I.A.

Belarusian Medical Academy of Post-Graduate Education, Minsk, Republic of Belarus

Vestnik VGMU. 2017;16(2):7-14.

Резюме.

Бронхиальная астма признана классическим примером мультифакториального заболевания. Это означает, что она развивается под действием факторов внешней среды при наличии генетической предрасположенности человека. О наследственной обусловленности бронхиальной астмы известно уже на протяжении ста лет. Более 500 000 генетических вариантов исследованы для определения ассоциации с астмой. Определена роль множества генов в патогенезе этого заболевания. Однако в последние годы все больше исследований посвящено эпигенетике: изучению влияния факторов внешней среды на активность генов. В статье представлен обзор литературы по проблеме генетики и эпигенетики бронхиальной астмы. Приведены данные о влиянии питания, голодания, дотации витаминов, курения, загрязнения воздуха и воды на риск астмы и ее тяжести. Отдельное внимание уделено роли факторов внешней среды, воздействующих на человека на этапе внутриутробного развития.

Ключевые слова: бронхиальная астма, генетические факторы, эпигенетика, факторы внешней среды.

Abstract.

Bronchial asthma is recognized as a classic example of a multifactorial disease. This means that it develops under the influence of external environmental factors in the presence of a person's genetic predisposition. The hereditary conditionality of bronchial asthma has been known for over a hundred years. More than 500,000 genetic variants have been studied to determine the association with asthma. The role of many genes in the pathogenesis of this disease has been ascertained. However, during the recent years more and more researches are devoted to epigenetics (studying the influence of external environmental factors on the activity of genes). The article presents literature review on the issue of genetics and epigenetics of bronchial asthma. The data on the influence of nutrition, fasting, consumption of vitamins, smoking, air and water pollution on the risk of asthma and its severity are also given. Special attention is paid to the role of external environmental factors influencing a person during the phase of intrauterine development.

Key words: bronchial asthma, genetic factors, epigenetics, external environmental factors.

Бронхиальная астма – это хроническое воспалительное заболевание, ассоциированное с вариабельной обструкцией дыхательных путей и бронхиальной гиперреактивностью, которое проявляется в виде повторяющихся эпизодов свистящего дыхания, кашля, ощущения нехватки воздуха и чувства стеснения в груди [1]. Это мультифакториальное заболевание: оно развивается под действием факторов внешней среды при наличии генетической предрасположенности человека [2, 3].

То, что астма имеет наследственную обусловленность, известно уже на протяжении века – с 1916 года, когда Cooke и Vander представили результаты эпидемиологического исследования. В нем участвовал 621 пробанд с атопией, 76 без нее (контрольная группа) и члены их семей. Был выявлен отягощенный по атопии наследственный анамнез у 48,4% пробандов с атопией и у 14,5% без нее. Спустя 100 лет, в 2016 году, Ulema и соавт. в исследовании, охватившем 25306 близнецов в возрасте 9-12 лет, выявили наследственную

обусловленность бронхиальной астмы в 82% случаев. Было показано, что у монозиготных близнецов астма диагностируется чаще, чем у дизиготных. По данным ряда авторов, генетическая составляющая наблюдается в 60-80% случаев развития астмы. Многочисленными исследованиями доказано, что генетические факторы многократно усиливают действие средовых у пациентов с бронхиальной астмой. Недавно были опубликованы результаты исследований геномных связей, которые охватили более 500 000 генетических вариантов для определения ассоциации с астмой [4].

Гены, вовлеченные в патогенез бронхиальной астмы

Первые исследования роли генетики в патогенезе астмы, проведенные среди детей, опирались на биологию или расположение в геноме. Так была доказана причинно-значимая роль ряда генов и локусов: DPP10, PCDH1, HLAG, NPSR1, PHF11, PLAUR, ADAM33, IL10, CD14, IL4, IL13, ADRB2, HLA-DRB1, HLA-DQB1, TNFA, FCER1B, INPP4A, STAT6 и IL4RA. Секвенирование обеспечило существенный прорыв в понимании генетики астмы. Проекты НарМар, 1000 геномов и самый свежий - 100 000 геномов продемонстрировали, что у человека существует более 60 миллионов вариантов полиморфизма одиночных нуклеотидов и их пар [4].

Ассоциированные с развитием бронхиальной астмы гены предложено группировать по выполняемой ими функции: ответственные за ответ лимфоцитов второго типа (Th-2 ответ): GATA 3, STAT 6, интерлейкина (IL) 4, IL-13, IL – 4 RA, TBX21, IL-12B); связанные с воспалением (IL-18, фактора некроза опухоли α (TNF α)); связанные с чувствительностью к факторам внешней среды, первичным иммунным ответом; связанные с ремоделированием дыхательных путей; связанные с бронхоконстрикцией; связанные с дисфункцией эпителиального барьера [5].

Первое исследование распространенных геномных ассоциаций было завершено группой ученых во главе с Moffatt в 2007 г. В их исследование были включены 994 пациента с астмой, дебютировавшей в детском возрасте, и 1243 человека без астмы (группа контроля). Итогом этой работы стало доказательство сильной ассоциации 17q21 и развития астмы [10]. Выявлена ассоциация 17q21 с дебютом бронхиальной астмы

в детском возрасте в различных этнических популяциях [6], с тяжелым ее течением [11, 12] и тяжелыми обострениями [13]. Следует подчеркнуть, что выделенные причинно-значимые в патогенезе астме гены согласуются с гипотезой о том, что рассматриваемое заболевание развивается как результат изначальной дисфункции эпителиального барьера и нарушений первичного или адаптивного иммунного ответа.

Описана связь бронхиальной астмы с хромосомами 1q (устойчивое сцепление), слабое сцепление с локусом 2q (рядом с кластером IL-1), 4q, 5q, 6p (рядом с главным комплексом гистосовместимости — МНС), 7, 9, 11q (содержащим Fc ϵ RI- β), 12q (сильное сцепление), 13q, 16, 17q (сильное сцепление), 19q, 21q. В локусе хромосомы 1q31 идентифицирован ген DENND1B, который экспрессируется натуральными киллерами и дендритными клетками, кодирует белок, взаимодействующий с рецептором фактора некроза опухоли, и связан с развитием астмы [7]. Расовых различий не обнаружено. Но значение локусов в развитии отдельных проявлений оказалось разным [8].

Известно, что существуют гены, отвечающие только за предрасположенность к астме, и наоборот, есть гены, отвечающие только за тяжесть болезни. Например, в работе F. Miriam и соавторов (2010г.) было обнаружено, что между локусами, регулирующими уровень общего сывороточного IgE (за исключением IL-13 и региона HLA), и локусами, отвечающими за предрасположенность к астме, мало общего. Следовательно, повышение IgE может быть непостоянным проявлением астмы, а не ее «фундаментом», что согласуется с отсутствием связи между сенсibilизацией и астмой во многих популяциях. И наоборот, ген SERPINE1 не является геном предрасположенности к астме, а отвечает за тяжесть, прогрессирование и ответ на длительный прием ингаляционных кортикостероидов. Для пациентов с аллелью 5G характерны более высокий уровень сывороточного IgE, более выраженные нарушения функции внешнего дыхания и более тяжелое течение заболевания. Продemonстрировано, что большая выраженность гена в аллели ассоциирована с лучшим эффектом ингаляционных кортикостероидов [9].

Согласно данным исследования GABRIEL около 49% случаев жизнеугрожающей бронхиальной астмы можно объяснить активностью выделенных локусов [11].

На сегодняшний день описана роль множества генов в развитии бронхиальной астмы (табл.).

Однако успешная терапия и качество жизни пациентов с астмой все еще остаются открытыми, бурно обсуждаемыми вопросами. И теперь «новой надеждой», «новым горизонтом» называют не просто генетику, а эпигенетику. Речь идет о влиянии внешней среды (диета, гормоны и другие факторы и условия среды) на экспрессию генов. Эпигенетика входит в топ-10 новых прорывных технологий. Описано несколько эпигенетических сигналов: метилирование ДНК, направляемое РНК метилирование ДНК и замалчивание генов, разнообразные энзиматические модификации гистонов (гистоновый код), геномные и хромосомные перестройки, малые некодирующие РНК (siRNA, или так называемые малые интерферирующие РНК) [14], изменения митохондриальной ДНК [15]. Предполагают, что именно эпигенетика определяет формирование различных фенотипов бронхиальной астмы [16].

Влияние факторов внешней среды на активность генов при бронхиальной астме

Ген-средовые взаимодействия могут быть критическим фактором, модифицирующим фенотипическое проявление генов. Доказано, что бронхиальная астма у курящих ассоциирована

с генами GSDMB (rs7216389), NOS3 (VNTR) и ADRB2 (Gln27Glu), у некурящих – с GSDMB (rs7216389), CHRNA5 (rs16969968), ADRB2 (Gln27Glu) и TH01 (STR). Выявлены аллели и генотипы повышенного риска формирования астмы, одинаковые для курящих и некурящих больных, – носительство аллеля Т и гомозиготного генотипа Т/Т полиморфизма rs7216389 GSDMB. В то же время установлены различия: так, у курящих носительство генотипов *4/4 или *4/5 гена NOS3 (VNTR), генотипов GG или CG гена ADRB2 (Gln27Glu) является маркером повышенного риска заболевания; а у некурящих маркерами повышенного риска бронхиальной астмы считают носительство генотипа *CC гена ADRB2 (Gln27Glu), носительство аллеля G и генотипа *G/G гена CHRNA5 (rs16969968), носительство аллелей и генотипов, содержащих короткие повторы с числом 6–9 гена TH01 (STR). Определен дополнительный генетический атрибутивный риск, доказывающий вклад табакокурения в развитие бронхиальной астмы. Опубликованы данные о том, что ключевая роль в формировании предрасположенности к бронхиальной астме у курящих и некурящих принадлежит полиморфным вариантам rs7216389 гена гасдермина В, гена ADRB (Gln27Glu). У курящих в формировании моделей межгенных взаимодействий участвуют гены эндотелиальной и индуцибельной синтазы оксида азота NOS3 (VNTR), NOS2A (CCTTT)n

Таблица 1 – Гены и их роль в патогенезе бронхиальной астмы [10]

Ген	Хромосома	Предполагаемая роль
IL6R	1q21	регуляция функции Th-клеток, дифференцировка Т-лимфоцитов
DENND1B	1q31	функции памяти Т- лимфоцитов
IL1RL1	2q11	IL-33-рецепторное рекрутирование клеток воспаления
PDE4D	5q12	межклеточное взаимодействие, воспаление, работа гладкой мускулатуры дыхательных путей
TSLP	5q22	активация дендритных клеток, Th2-иммунный ответ
SLC22A4/RAD50/IL13	5q31	транспорт органических катионов, восстановление ДНК, цитокины Th2-клеток
HLA-DRA/DRQ	6p21	Th-клеточный ответ
CDHR3	7q22	полярность эпителия, межклеточные взаимодействия и дифференцировка
IL33	9p24	рекрутирование/активация клеток воспаления
C11orf 30/LRRC32	11p13	регуляция экспрессии генов, эпителиальный барьер, регуляторная функция Т-лимфоцитов
SMAD3	15q22	посредник тканевого фактора роста β, фиброз
ORMDL3/GSDMB	17q21	синтез сфинголипидов, апоптоз клеток
IL2RB	22q12	связывание IL-2/ IL-15, дифференцировка лимфоидных клеток

и ген тирозингидроксилазы TH01 (STR); у некурящих – локусы ацетилхолинового никотинового рецептора rs16969968CHRNA5, полиморфизм rs2305480 гена гасдермина GSDMB и ген β 2-адренергического рецептора ADRB (Arg16Gly) [17].

Согласно гипотезе оксидативного стресса бронхиальная астма, триггерами обострения которой являются поллютанты, ассоциирована с дефектами «антиоксидантных» генов - GSTM1, GSST1 и NQO1. В таких случаях снижена активность этих генов. Опубликованы данные о том, GSTM1-недействительный генетический вариант ассоциирован с дебютом астмы в молодом возрасте и более выраженной обструкцией у детей, которые на внутриутробном этапе развития подвергались воздействию табака [18]. Курение, воздействие табака в период внутриутробного развития ребенка связывают с возрастающей экспрессией mi-223 как в материнских моноцитах, так и в моноцитах плода из пуповинной крови, что приводит к уменьшению числа Т-регуляторных лимфоцитов [19]. У подвергающихся курению детей обнаружили гиперметилирование CpG последовательности, что приводит к снижению синтеза γ -интерферона [20]. Более того, описано, что у ребенка выше риск астмы, если его бабушка курила, будучи беременной его матерью. В эксперименте на крысах получили подобные данные. Никотин во время беременности приводил к нарушению функции легких у потомства F1 (дети) и F2 (внуки). Любопытен факт, что риск астмы у детей от матерей, которые курили во время беременности, снижается при условии грудного вскармливания не менее 3 месяцев и отсутствии рецидивирующих заболеваний нижних дыхательных путей [21].

Отечественные ученые проанализировали показатели функции внешнего дыхания у взрослых пациентов с астмой с учетом аллельного состояния генов GSTM1 и GSTT1 и пришли к выводу о необходимости назначения лекарственных средств в более высоких дозах [22], причина и механизм развития такой картины, к сожалению, не были раскрыты.

Эпигенетические механизмы сейчас находятся в стадии активного изучения [14]. Гипотеза развивающегося здоровья и заболевания говорит о том, что внешние факторы в период внутриутробного развития определяют заболевания человека в последующем. Предполагают, что некоторые гены, ответственные за работу легких,

активируются уже в пренатальном периоде. Например, ADAM33, ген, который ассоциирован с развитием астмы и гиперреактивностью бронхов, экспрессируется в бронхах и окружающей их мезенхиме на 8-10 неделе развития плода [21].

Одним из мощнейших факторов риска аллергии у ребенка признан отягощенный наследственный анамнез, что известно уже давно. Доказано, что статус атопии беременной женщины влияет на TLR1, TLR2 и TLR1 генотип плода, что изменяет экспрессию генов, ответственных за Т-регуляторные клетки и уровень цитокинов Т2-лимфоцитов. Кроме аллергических заболеваний матери, факторами риска являются и другие ее состояния: ожирение (индекс массы тела 35 и более) и чрезмерная прибавка массы тела во время беременности (25 кг и более) повышают шанс дебюта астмы у ребенка к возрасту 7 лет, но не влияют на реализацию атопического дерматита и аллергического ринита. У детей, матери которых страдают ожирением, снижается число эозинофилов, CD4+ клеток в пуповинной крови, изменяется ответ на лиганды Toll-подобных рецепторов и уровни цитокинов [21].

Проведено много работ по изучению питания беременной женщины как фактора профилактики аллергических заболеваний детей. Данные исследований по превентивной роли потребления рыбы и рыбьего жира крайне противоречивы [23, 24, 25, 26].

Фолиевая кислота, которая традиционно рекомендуется беременным для профилактики патологии нервной трубки плода, в некоторых исследованиях была связана с повышенным уровнем атопии у ребенка. Повышение риска атопии в этом случае связывают с метилированием ДНК [18, 21]. Другие авторы убеждены, что повышенный риск атопии краткосрочный и преходящий, связан с приемом фолиевой кислоты женщиной в поздних сроках беременности [27].

Также опубликованы противоречивые данные о связи приема беременной витаминов К, Д, А, Е и риска развития астмы у ребенка [21, 28].

Голодание во время беременности также запускает метилирование ДНК [29].

Загрязнение воздуха также вносит свой вклад в эпигенетику [30]. Пренатальное воздействие поллютантов фталатов может повышать риск астмы у ребенка через механизм метилирования ДНК [32].

Различные отрицательные эмоции и стрессы (развод, потеря работы), переносимые бе-

ременной женщиной, опосредованно через рецепторы к глюкокортикостероидам приводят к метилированию ДНК [32].

Описано, что способ родоразрешения влияет на риск развития аллергического заболевания, в том числе и бронхиальной астмы. Предполагают, что у детей, рожденных путем операции кесарева сечения, сниженное содержание бактериоидов в кишечной микробиоте и измененный Th-1 клеточный ответ сохраняются на протяжении 2 лет жизни, что может способствовать реализации астмы [21]. Определенную роль в эпигенетике отводят микробиоте. Доказано, что состояние микробиоты кишечника беременной связано с риском развития аллергических заболеваний и метаболических нарушений у ребенка [28].

Другие средовые факторы (например, примесь в воде мышьяка и некоторых металлов) могут изменять активность генов не только через метилирование ДНК, но и через ацетилирование гистонов или экспрессию микроРНК [14, 18, 33].

Группой ученых из США было проведено исследование, учитывающее генотип, экспрессию генов и метаболизм. Был сделан вывод о том, что обмен сфинголипидов связан с контролем астмы. Доказано, что арахидоновая кислота может изменять экспрессию генов, ответственных за воспаление, через ген PRKCE, через связывающий G-белок рецептор и активность GTP-азы, вероятно, через GNA12 и CHN1 [34].

С данными о важной роли средовых факторов на ранних этапах развития контрастируют данные ученых из Дании. Они обследовали 850 монозиготных и 2279 дизиготных пар близнецов в возрасте 3-9 лет. Изучалась роль срока гестации к моменту рождения, способа родоразрешения (кесарево сечение), возраста матери к моменту родов, условий проживания родителей, сезона рождения и курения матерью во время беременности в развитии атопических заболеваний. Не было получено убедительных данных действия анализируемых факторов риска на генетическую составляющую, авторы пишут о доминирующей роли других, вероятно, не ген-средовых взаимодействий [35].

Заключение

Итак, резюмируем вышеизложенное: к настоящему моменту установлена роль многих генов в развитии бронхиальной астмы, известны внешнесредовые факторы, опосредующие ее

развитие, доказана роль эпигенетики в патогенезе заболевания, подробно охарактеризованы некоторые молекулярные механизмы эпигенетики. Огромная ставка сделана на эпигенетику как на ключ к пониманию глубинных механизмов реализации астмы и новых подходов к лечению людей с этим заболеванием. Однако полученные данные порой противоречивы, что, по мнению самих авторов, требует большего объема исследований. Много усилий направлено на развитие этого направления в надежде на то, что эпигенетика позволит справиться с наиболее трудными моментами в терапии множества заболеваний, в том числе и бронхиальной астмы.

Литература

1. International consensus on (ICON) pediatric asthma / N. G. Papadopoulos [et al.] // *Allergy*. – 2012 Aug. – Vol. 67, N 8. – P. 976–997.
2. 2017 GINA Report, Global Strategy for Asthma Management and Prevention [Electronic resource]. – Mode of access: <http://ginasthma.org/2017-gina-report-global-strategy-for-asthma-management-and-prevention/>. – Date of access: 24.03.2017.
3. Global Atlas of Asthma / European Academy of Allergy and Clinical Immunology ; editors C. A. Akdis, I. Agache. – Zurich, 2013. – 179 p.
4. Portelli, M. Genome-Wide Association Studies in Asthma [Electronic resource] / M. Portelli, I. Sayers. – Mode of access: <http://www.els.net/WileyCDA/ElsArticle/refId-a0024639.html>. – Date of access: 04.04.2017.
5. March, M. E. Genetic polymorphisms and associated susceptibility to asthma / M. E. March, P. M. Sleiman, H. Hakonarson // *Int. J. Gen. Med.* – 2013 Apr. – Vol. 6. – P. 253–265.
6. Genetic variants of 17q21 are associated with childhood-onset asthma and related phenotypes in a northeastern Han Chinese population: a case-control study / X. Yu [et al.] // *Tissue Antigens*. – 2014 May. – Vol. 83, N 5. – P. 330–336.
7. Variants of DENND1B associated with asthma in children / P. M. Sleiman [et al.] // *N. Engl. J. Med.* – 2010 Jan. – Vol. 362, N 1. – P. 36–44.
8. Генетика бронхиальной астмы и атопии / В. М. Делягин [и др.] // *Мед. совет.* – 2012. – № 5. – С. 33–39.
9. Шаймуратов, Р. И. Долгосрочный прогноз бронхиальной астмы: от постановки диагноза до хронизации процесса / Р. И. Шаймуратов, А. А. Визель // *Вестн. современ. клин. медицины*. – 2012. – Т. 5, № 1. – С. 56–62.
10. Portelli, M. A. Genetic risk factors for the development of allergic disease identified by genome-wide association / M. A. Portelli, E. Hodge, I. Sayers // *Clin. Exp. Allergy*. – 2015 Jan. – Vol. 45, N 1. – P. 21–31.
11. A large-scale, consortium-based genomewide association study of asthma / M. F. Moffatt [et al.] // *N. Engl. J. Med.* – 2010 Sep. – Vol. 363, N 13. – P. 1211–1221.
12. Genome-wide association study to identify genetic determinants of severe asthma / Y. I. Wan [et al.] // *Thorax*. – 2012 Sep. – Vol. 67, N 9. – P. 762–768.

13. A genome-wide association study identifies CDHR3 as a susceptibility locus for early childhood asthma with severe exacerbations / K. Bonnelykke [et al.] // *Nat. Genet.* – 2014 Jan. – Vol. 46, N 1. – P. 51–55.
14. Ванюшин, Б. Ф. Эпигенетика сегодня и завтра / Б. Ф. Ванюшин // *Вавилов. журн. генетики и селекции.* – 2013. – Т. 17, № 4/2. – С. 805–832.
15. Brunst, J. K. Integrating mitochondriomics in children's environmental health / J. K. Brunst, A. A. Baccarelli, R. J. Wright // *J. Appl. Toxicol.* – 2015 Sep. – Vol. 35, N 9. – P. 976–991.
16. Эпигенетические механизмы действия транскрипционных факторов в патогенезе бронхиальной астмы / В. Н. Минеев [и др.] // *Ученые зап. СпбГМУ им. акад. И. П. Павлова.* – 2012. – Т. 19, № 1. – С. 6–11.
17. Анализ межгенных и ген-средовых взаимодействий, predisполагающих к бронхиальной астме / Б. Ц. Батожаргалова [и др.] // *Перм. мед. журн.* – 2014. – Т. 31, № 2. – С. 46–55.
18. Peden, D. B. Does air pollution really cause allergy? / D. B. Peden // *Clin. Exp. Allergy.* – 2015 Jan. – Vol. 45, N 1. – P. 3–5.
19. Maternal and cord blood miR-223 expression associates with prenatal tobacco smoke exposure and low regulatory T-cell numbers / G. Herberth [et al.] // *J. Allergy Clin. Immunol.* – 2014 Feb. – Vol. 133, N 2. – P. 543–550.
20. Secondhand smoke in combination with ambient air pollution exposure is associated with increased CpG methylation and decreased expression of IFN-gamma in T effector cells and Foxp3 in T regulatory cells in children / A. Kohli [et al.] // *Clin. Epigenetics.* – 2012 Sep. – Vol. 4, N 1. – P. 17.
21. Lockett, G. A. Does allergy begin in utero? / G. A. Lockett, J. Huoman, J. W. Holloway // *Pediatr. Allergy. Immunol.* – 2015 Aug. – Vol. 26, N 5. – P. 394–402.
22. Функция внешнего дыхания у пациентов с бронхиальной астмой с учетом генетического полиморфизма / Н. И. Дударева [и др.] // *Здравоохранение.* – 2013. – № 6. – С. 4–6.
23. Maternal fish intake during pregnancy and atopy and asthma in infancy / I. Romieu [et al.] // *Clin. Exp. Allergy.* – 2007 Apr. – Vol. 37, N 4. – P. 518–525.
24. Effect of n-3 long chain polyunsaturated fatty acid supplementation in pregnancy on infants' allergies in first year of life: randomised controlled trial / D. J. Palmer [et al.] // *BMJ.* – 2012. – Vol. 344. – P. e184.
25. Maternal fish consumption during pregnancy and risks of wheezing and eczema in childhood: the Generation Study / E. T. Leermakers [et al.] // *Eur. J. Clin. Nutr.* – 2013 Apr. – Vol. 67, N 4. – P. 353–359.
26. Increased intake of oily fish in pregnancy: effects on neonatal immune responses and on clinical outcomes in infants at 6 months / P. S. Noakes [et al.] // *Am. J. Clin. Nutr.* – 2012. – Vol. 95. – P. 395–404.
27. Brown, S. B. Maternal folate exposure in pregnancy and childhood asthma and allergy: a systematic review / S. B. Brown, K. W. Reeves, E. R. Bertone-Johnson // *Nutr. Rev.* – 2014 Jan. – Vol. 72, N 1. – P. 55–64.
28. Mechanisms of allergic disease–environmental and genetic determinants for the development of allergy / D. E. Campbell [et al.] // *Clin. Exp. Allergy.* – 2015 May. – Vol. 45, N 5. – P. 844–858.
29. DNA methylation signatures link prenatal famine exposure to growth and metabolism / E. W. Tobin [et al.] // *Nat. Commun.* – 2014 Nov. – Vol. 5. – P. 5592.
30. Genomics and the respiratory effects of air pollution exposure / J. W. Holloway [et al.] // *Respirology.* – 2012 May. – Vol. 17, N 4. – P. 590–600.
31. Effects of phthalate exposure on asthma may be mediated through alterations in DNA methylation / I. J. Wang [et al.] // *Clin. Epigenetics.* – 2015 Mar. – Vol. 7. – P. 27.
32. Lim, R. Maternal stress during pregnancy increases neonatal allergy susceptibility: role of glucocorticoids / R. Lim, A. V. Fedulov, L. Kobzik // *Am. J. Physiol. Lung. Cell. Mol. Physiol.* – 2014 Jul. – Vol. 307, N 2. – P. L141–148.
33. Ambient particulate air pollution and microRNAs in elderly men / S. Fossati [et al.] // *Epidemiology.* – 2014 Jan. – Vol. 25, N 1. – P. 68–78.
34. The metabolomics of asthma control: a promising link between genetics and disease / M. J. McGeachie [et al.] // *Imm. Inflamm. Dis.* – 2015. – Vol. 3, N 3. – P. 224–238.
35. Gene–environment interaction in atopic diseases: a population-based twin study of early-life exposures / N. Kahr [et al.] // *Clin. Respir. J.* – 2015 Jan. – Vol. 9, N 1. – P. 79–86.

Поступила 02.11.2016 г.

Принята в печать 04.04.2017 г.

References

1. Papadopoulos NG, Arakawa H, Carlsen KH, Custovic A, Gern J, Lemanske R, et al. International consensus on (ICON) pediatric asthma. *Allergy.* 2012 Aug;67(8):976-97. doi: 10.1111/j.1398-9995.2012.02865.x
2. 2017 GINA Report, Global Strategy for Asthma Management and Prevention [Internet]. [cited 2017 Mar 24]. Available from: <http://ginasthma.org/2017-gina-report-global-strategy-for-asthma-management-and-prevention/>.
3. European Academy of Allergy and Clinical Immunology; Akdis CA, Agache I, editors. *Global Atlas of Asthma.* Zurich; 2013. 179 p.
4. Portelli M, Sayers I. Genome-Wide Association Studies in Asthma [Internet]. 2017 [cited 2017 Apr 04]. Available from: <http://www.els.net/WileyCDA/ElsArticle/refId-a0024639.html>.
5. March ME, Sleiman PM, Hakonarson H. Genetic polymorphisms and associated susceptibility to asthma. *Int J Gen Med.* 2013 Apr;6:253-65. doi: 10.2147/IJGM.S28156
6. Yu X, Yu C, Ren Z, Deng Y, Song J, Zhang H, et al. Genetic variants of 17q21 are associated with childhood-onset asthma and related phenotypes in a northeastern Han Chinese population: a case-control study. *Tissue Antigens.* 2014 May;83(5):330-6. doi: 10.1111/tan.12342
7. Sleiman PM, Flory J, Imielinski M, Bradfield JP, Annaiah K, Willis-Owen SA, et al. Variants of DENND1B associated with asthma in children. *N Engl J Med.* 2010 Jan;362(1):36-44. doi: 10.1056/NEJMoa0901867
8. Delyagin VM, Arakcheeva EE, Urazbagambetov A,

- Budchanov YuI. Genetics of asthma and atopy. *Med Sovet*. 2012;(5):33-9. (In Russ.)
9. Shaymuratov R, VizeI' AA. Long-term prognosis of asthma: from diagnosis to chronic process. *Vestn Sovremen Klin Meditsiny*. 2012;5(1):56-62. (In Russ.)
10. Portelli MA, Hodge E, Sayers I. Genetic risk factors for the development of allergic disease identified by genome-wide association. *Clin Exp Allergy*. 2015 Jan;45(1):21-31. doi: 10.1111/cea.12327
11. Moffatt MF, Gut IG, Demenais F, Strachan DP, Bouzigon E, Heath S, et al. A large-scale, consortium-based genomewide association study of asthma. *N Engl J Med*. 2010 Sep;363(13):1211-21. doi: 10.1056/NEJMoa0906312
12. Wan YI, Shrine NR, Soler Artigas M, Wain LV, Blakey JD, Moffatt MF, et al. Genome-wide association study to identify genetic determinants of severe asthma. *Thorax*. 2012 Sep;67(9):762-8. doi: 10.1136/thoraxjnl-2011-201262
13. Bønnelykke K, Sleiman P, Nielsen K, Kreiner-Møller E, Mercader JM, Belgrave D, et al. A genome-wide association study identifies CDHR3 as a susceptibility locus for early childhood asthma with severe exacerbations. *Nat Genet*. 2014 Jan;46(1):51-5. doi: 10.1038/ng.2830
14. Vanyushin BF. Epigenetics today and tomorrow. *Vavilov Zhurn Genetiki Selektii*. 2013;17(4-2):805-32. (In Russ.)
15. Brunst KJ, Baccarelli AA, Wright RJ. Integrating mitochondriomics in children's environmental health. *J Appl Toxicol*. 2015 Sep;35(9):976-91. doi: 10.1002/jat.3182
16. Mineev VN, Sorokina LN, Nema MA, Uspenskaya YuK. Epigenetic mechanisms of action of transcription factors in the pathogenesis of bronchial asthma. *Uchenye Zap SPbGMU im akad IP Pavlova*. 2012;19(1):6-11. (In Russ.)
17. Batozhargalova BTs, Petrova NV, Timkovskaya ES, Mizernitskiy YuL, Zinchenko RA. Analysis of intergenic and gene-environmental interactions predisposing to bronchial asthma. *Perm Med Zhurn*. 2014;31(2):46-55. (In Russ.)
18. Peden DB. Does air pollution really cause allergy? *Clin Exp Allergy*. 2015 Jan;45(1):3-5. doi: 10.1111/cea.12414
19. Herberth G, Bauer M, Gasch M, Hinz D, Röder S, Olek S. Maternal and cord blood miR-223 expression associates with prenatal tobacco smoke exposure and low regulatory T-cell numbers. *J Allergy Clin Immunol*. 2014 Feb;133(2):543-50. doi: 10.1016/j.jaci.2013.06.036
20. Kohli A, Garcia MA, Miller RL, Maher C, Humblet O, Hammond SK, et al. Secondhand smoke in combination with ambient air pollution exposure is associated with increased CpG methylation and decreased expression of IFN-gamma in T effector cells and Foxp3 in T regulatory cells in children. *Clin Epigenetics*. 2012 Sep;4(1):17. doi: 10.1186/1868-7083-4-17
21. Lockett GA, Huoman J, Holloway JW. Does allergy begin in utero? *Pediatr Allergy Immunol*. 2015 Aug;26(5):394-402. doi: 10.1111/pai.12408
22. Dudareva NI, Levanskiy OG, Shimkevich AM, Aksenova EA, Danilenko NG, Denchuk LN. The function of external respiration in patients with bronchial asthma taking into account genetic polymorphism. *Zdravookhranenie*. 2013;(6):4-6. (In Russ.)
23. Romieu I, Torrent M, Garcia-Esteban R, Ferrer C, Ribas-Fitó N, Antó JM, et al. Maternal fish intake during pregnancy and atopy and asthma in infancy. *Clin Exp Allergy*. 2007 Apr;37(4):518-25.
24. Palmer DJ, Sullivan T, Gold MS, Prescott SL, Heddle R, Gibson RA, et al. Effect of n-3 long chain polyunsaturated fatty acid supplementation in pregnancy on infants' allergies in first year of life: randomised controlled trial. *BMJ*. 2012;344:e184. doi: 10.1136/bmj.e184
25. Leermakers ET, Sonnenschein-van der Voort AM, Heppe DH, de Jongste JC, Moll HA, Franco OH, et al. Maternal fish consumption during pregnancy and risks of wheezing and eczema in childhood: the Generation Study. *Eur J Clin Nutr*. 2013 Apr;67(4):353-9. doi: 10.1038/ejcn.2013.36
26. Noakes PS, Vlachava M, Kremmyda L-S, Diaper ND, Miles EA, Erlewyn-Lajeunesse M. Increased intake of oily fish in pregnancy: effects on neonatal immune responses and on clinical outcomes in infants at 6 months. *Am J Clin Nutr*. 2012;95:395-404. doi: 10.3945/ajcn.111.022954
27. Brown SB, Reeves KW, Bertone-Johnson ER. Maternal folate exposure in pregnancy and childhood asthma and allergy: a systematic review. *Nutr Rev*. 2014 Jan;72(1):55-64.
28. Campbell DE, Boyle RJ, Thornton CA, Prescott SL. Mechanisms of allergic disease—environmental and genetic determinants for the development of allergy. *Clin Exp Allergy*. 2015 May;45(5):844-58. doi: 10.1111/cea.12531
29. Tobi EW, Goeman JJ, Monajemi R, Gu H, Putter H, Zhang Y, et al. DNA methylation signatures link prenatal famine exposure to growth and metabolism. *Nat Commun*. 2014 Nov;5:5592. doi: 10.1038/ncomms6592
30. Holloway JW, Savarimuthu Francis S, Fong KM, Yang IA. Genomics and the respiratory effects of air pollution exposure. *Respirology*. 2012 May;17(4):590-600. doi: 10.1111/j.1440-1843.2012.02164.x
31. Wang IJ, Karmaus WJ, Chen SL, Holloway JW, Ewart S. Effects of phthalate exposure on asthma may be mediated through alterations in DNA methylation. *Clin Epigenetics*. 2015 Mar;7:27. doi: 10.1186/s13148-015-0060-x
32. Lim R, Fedulov AV, Kobzik L. Maternal stress during pregnancy increases neonatal allergy susceptibility: role of glucocorticoids. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 2014 Jul;307(2):L141-8. doi: 10.1152/ajplung.00250.2013
33. Fossati S, Baccarelli A, Zanobetti A, Hoxha M, Vokonas PS, Wright RO, et al. Ambient particulate air pollution and microRNAs in elderly men. *Epidemiology*. 2014 Jan;25(1):68-78. doi: 10.1097/EDE.0000000000000026
34. McGeachie MJ, Dahlin A, Qiu W, Croteau-Chonka DC, Savage J, Wu AC. The metabolomics of asthma control: a promising link between genetics and disease. *Immun Inflamm Dis*. 2015;3(3):224-38. doi: 10.1002/iid3.61
35. Kahr N, Naeser V, Stensballe LG, Kyvik KO, Skytthe A, Backer V, et al. Gene-environment interaction in atopic diseases: a population-based twin study of early-life exposures. *Clin Respir J*. 2015 Jan;9(1):79-86. doi: 10.1111/crj.12110

Submitted 02.11.2016

Accepted 04.04.2017

Сведения об авторах:

Ненартович И.А. – к.м.н., доцент кафедры поликлинической педиатрии, Белорусская медицинская академия последипломного образования.

Information about authors:

Nenartovich I.A. – Candidate of Medical Sciences, associate professor of the Chair of Ambulant Pediatrics, Belarusian Medical Academy of Post-Graduate Education.

Адрес для корреспонденции: Республика Беларусь, 220013, г. Минск, ул. П.Бровки, д. 3, корп. 3, Белорусская медицинская академия последипломного образования, кафедра поликлинической педиатрии. E-mail: i.nenartovich@vnauke.by – Ненартович Ирина Антоновна.

Correspondence address: Republic of Belarus, 210013, Minsk, 3 P. Brovki str., 3, Belarusian Medical Academy of Post-Graduate Education. E-mail: i.nenartovich@vnauke.by – Irina A. Nenartovich.

ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКИЕ И МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ДИАГНОСТИКИ ОНКОЛОГИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

**СЕМЕНОВ В.М., ПАШИНСКАЯ Е.С., ПОБЯРЖИН В.В., СУББОТИНА И.А.,
ШЛЯХТУНОВ Е.А., ВЕРЕМЕЙ И.С., СЕМЕНОВ С.В.**

Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет, г. Витебск,
Республика Беларусь

Вестник ВГМУ. – 2017. – Том 16, №2. – С. 15-25.

IMMUNOHISTOCHEMICAL AND MOLECULAR-GENETIC METHODS OF THE ONCOLOGIC DISEASES DIAGNOSING (LITERATURE REVIEW)

**SEMENOV V.M., PASHINSKAYA E.S., POBYARZHIN V.V., SUBBOTINA I.A.,
SHLYAKHTUNOV E.A., VEREMEY I.S., SEMENOV S.V.**

Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University, Vitebsk, Republic of Belarus

Vestnik VGMU. 2017;16(2):15-25.

Резюме.

Известно, что для проведения научных и клинических исследований в современной биологии и медицине применяют огромный набор всевозможных методов и методик, а иногда и их сочетание. Иммуногистохимические (ИГХ) и молекулярно-генетические методы являются одними из преобладающих в изучении патологоанатомических, морфофизиологических, онкоморфологических и биологических аспектов жизнедеятельности организмов. В современной диагностической практике можно выделить несколько основных областей применения ИГХ. В первую очередь, это исследования опухолей человека с целью определения гистогенеза недифференцированных опухолевых образований, отдаленных метастазов, а также для дифференцировки различных тканевых компонентов, составляющих комплексные опухоли. Во-вторых, с целью прогностической оценки дальнейшего течения заболевания и при назначении терапии.

Молекулярно-генетическими маркерами (МГМ) называют полиморфные признаки, выявляемые с использованием ДНК- и РНК-технологий на уровне нуклеотидной последовательности ДНК для определенного гена или любого другого участка хромосомы. Исследование молекулярно-генетических маркеров представляет собой обширное поле научно-исследовательской деятельности и имеет принципиальное значение для клиники. МГМ часто определяют при подозрении на структурные и функциональные повреждения в геноме опухолевой клетки потому, что нестабильность генома является основным свойством опухолей. Подобные повреждения приводят к изменению экспрессии генов, которые регулируют клеточный цикл, метастатическую и инвазивную активность клеток. В результате изменяется экспрессия генов, кодирующих адгезионные белки и факторы активности неоангиогенеза, возникает инактивация генов-супрессоров, активируется теломераза в клетках опухолей. Повреждения генома могут приводить к развитию как наследственных онкологических синдромов, так и спорадических опухолей.

Ключевые слова: опухоли, методы, онкоген, тест-системы.

Abstract.

It is known that for conducting scientific and clinical researches in modern biology and medicine a great variety of methods and techniques and sometimes their combinations are used. Immunohistochemical (IHC) and molecular-genetic methods belong to those ones that prevail in the studying of pathoanatomical, morphophysiological, oncomorphologic and biological aspects of the organism's vital activity. Several main fields for the IHC methods use may be singled out in modern diagnosing practice. Primarily, these are the studies of human tumors aimed at the determination of histogenesis of undifferentiated neoplasms, distant metastases as well as the differentiation of different tissue components, making up

complex tumors. Secondly, they are used with the aim of prognostic evaluation of the further course of the disease and the treatment administration.

Molecular-genetic markers (MGM) are called polymorphic signs, revealed by means of DNA- and RNA- technologies at the level of nucleotide DNA sequence for a definite gene or any other chromosome site. The investigation of molecular-genetic markers is a wide field of scientific-research activity and has a paramount importance for the clinical picture. MGM are often determined when structural and functional damages in the genome of the tumor cell are suspected, because genome instability is the main tumoral property. Such damages lead to the change in the expression of genes, regulating cell cycle, metastatic and invasive activity of the cells. As a result, the expression of genes, coding adhesive proteins and neoangiogenesis activity factors changes, inactivation of genes-suppressors occurs, telomerase in tumoral cells activates. Genome damages can lead to the development of both hereditary oncologic syndromes and sporadic tumors.

Key words: tumors, methods, oncogene, test-systems.

Революция в методологических аспектах молекулярно-генетического анализа по праву может считаться одним из самых заметных достижений биотехнологий прошедшего десятилетия. Что касается настоящего времени, то с уверенностью можно отметить появившиеся принципиально новые подходы, которые позволяют в разы увеличить скорость накопления информации о структуре ДНК, РНК и белковых структур.

К методам, широко применяющимся в различных направлениях молекулярного анализа, можно отнести следующие: высокопроизводительные технологии (high throughput technologies), изучение «профилей» биомолекул (profiling), массивы данных (arrays), микрочипирование (microchips) и т. д [1, 2]. Известно, что онкология, иммунология, генетика являются лидерами по применению вышеперечисленных методов.

МГМ (молекулярно-генетические методы), используемые при диагностике новообразований, можно разделить на иммуногистохимические, молекулярно-генетические и биохимические [1, 2, 3]. Биохимические онкомаркеры, наиболее часто используемые в клинической практике, такие как РЭА, СА199, СА724, являются белками. Они с легкостью определяются в плазме крови пациента, а забор материала является малоинвазивным. Однако удаленность маркера от опухолевого очага определенно может повлиять на достоверность результата за счет снижения чувствительности и специфичности. Показано также, что концентрация МГМ в крови изменяется при доброкачественных опухолях, воспалительных процессах или при сочетанных новообразованиях [3, 4]. Не вызывает сомнения, что определённая часть исследований в этой области имеет непосредственное клиническое значение, если не сейчас, то в недалёком будущем. Однако адекватная интерпретация результатов мульти-

генных тестов возможна при условии высокого уровня взаимопонимания между специалистами по молекулярной генетике, биоинформатике, патологической анатомии, клинической онкологии, и, по понятным причинам, зачастую вызывает значительные затруднения.

В последние годы все больше возрастает роль морфолога в онкологической практике. Достижения в развитии методов молекулярной биологии, приведшие к открытию онкогенов и генов-супрессоров, потребовали интеграции результатов молекулярно-генетических исследований при постановке онкологического диагноза. Нельзя сказать, что традиционно используемые критерии диагностики не нужны, но, вне всякого сомнения, будущее определяет новое направление онкоморфологии, в котором будут учитываться не только структурные особенности опухолевого процесса, но и экспрессия специфических участков ДНК, так называемых онкогенов, которые позволят подойти к решению глобального вопроса на молекулярном уровне [4, 5].

Целью настоящей статьи является проведение сравнительного анализа иммуногистохимического и молекулярно-генетического методов, применяемых в медицине и молекулярной биологии.

Преимущества и недостатки иммуногистохимических методов

В настоящее время иммуногистохимические методы являются одними из преобладающих в изучении патологоанатомических, морфофизиологических, онкоморфологических и биологических аспектов жизнедеятельности организмов [5, 6, 7]. Иммуногистохимия (ИГХ) – метод, позволяющий выявить точную локализацию как клеточного, так и тканевого антигена с единов-

ременным иммунологическим анализом тканей или клеток при сохранении морфологии изучаемых объектов. Для этого применяют иммуногистохимические маркеры - молекулы белковой природы, синтезируемые в процессе экспрессии генов, принимающие участие в канцерогенезе. Чаще всего их визуальное определение проводит патологоанатом непосредственно в опухолевом материале, но этого недостаточно в связи с чувствительностью и специфичностью образцов. По нашему мнению, необходимо учитывать и молекулярно-биологические аспекты.

Известно, что в классическом канцерогенном процессе механизм активной экспрессии онкогенов является конечным звеном «патологической цепи», итогом которого является запуск опухолевых процессов. Воздействие негативных факторов различной природы на геном эукариотической клетки может привести к возникновению мутации в ДНК или РНК. В свою очередь, экспрессия мутантного участка геномной нуклеиновой кислоты приводит к последующему биосинтезу онкобелков по классической схеме.

Таким образом, учитывая вышеизложенное, в практике диагноста необходимо использовать ИГХ для полного подтверждения диагноза с целью определения гистогенетического анализа недифференцированных образований, метастазов, а также при прогностической оценке дальнейшего течения заболевания и назначении терапии [8, 9].

В научной и клинической лабораторной практике используют различные иммуногистохимические методы. Однако наиболее распространенным является не прямое иммуноокрашивание с использованием биотин-авидинового комплекса. Если сравнивать прямой и непрямой методы, то второй предпочтительней. Непрямой метод предполагает использование двух различных антител (первичных и вторичных). Первичные антитела реагируют с антигенами ткани, а меченые вторичные антитела специфически чувствительнее первичных потому, что с каждой молекулой первичных антител связывается несколько молекул вторичных антител, содержащих метку [10, 11].

При проведении ИГХ применяют биотин. Это соединение, которое хорошо переносит высокие температуры, адаптируется к кислой и щелочной среде, а также является неотъемлемым компонентом в реакции карбоксилирования. Известно, что биотин образует стойкое соединение с белковыми структурами, к которым относятся

ферменты и иммуноглобулины. В природе биотин молекулярной массой 68 кДа, связанный с гликопротеидом авидином, найден в белке яиц птиц. В таком комплексе авидин + биотин образуется очень стойкое соединение, которое разрушается только при температурной обработке. Хотелось бы отметить, что у авидина имеются 4 места присоединения, с которыми с успехом связываются как биотин, так и другие белки. Таким образом, свойство комплекса биотин + авидин может облегчить связь между антителами и ферментами, что с успехом используется учеными современности как ABC метод (Avidin and Biotinylated horseradish peroxidase macromolecular Complex) [10, 11, 12].

Однако, несмотря на имеющиеся преимущества, вышеуказанный метод имеет существенные недостатки. Так как авидин может присоединять эндогенный биотин, который в норме содержится в печени и почках, а также захватывать лектин, возможны ошибки в интерпретации результатов.

Во избежание неточностей в настоящий момент создана новая технология (SaBC-метод), которая основана на замене авидина на стрептавидин. Стрептавидин также имеет белковую природу и обладает такими же способностями связывать биотин. Плюсом стрептавидина является то, что он не имеет заряда в нейтральной среде, не связывается с эндогенными ферментами и биотином. Такое новшество позволило значительно уменьшить фоновое окрашивание и повысило чувствительность метода приблизительно в 8 раз.

Новые методы визуализации иммуногистохимической реакции с использованием конъюгатов полимеров все чаще и чаще используются в практике. Они основаны на том, что к длинной молекуле полимера можно присоединить большое количество фермента или первичных антител. Это приводит к повышению чувствительности метода [12, 13, 14].

Необходимо также отметить, что популярность получили и иммуногистохимические методы, в основе которых, для лучшей визуализации реакции, используют такие ферменты, как пероксидаза хрена или щелочная фосфатаза с использованием стрептавидинбиотинового комплекса. На первом этапе метода проводят нанесение неокрашенных первичных антител; на втором - биотинилированных вторичных антител, а на третьем – добавляют связанный с молекулами фермента стрептавидин. Зачастую получение

качественных результатов применяемого ИГХ-метода зависит от используемых реагентов и особенностей проведения реакции и методических приемов [14, 15]. Кроме того, одним из важных условий для успешного проведения иммуногистохимической реакции является грамотный подбор титра антител (максимальное разведение сыворотки, при котором наблюдается выраженное специфическое окрашивание без неспецифического фонового окрашивания окружающих тканей). Коммерчески доступные антитела всегда сопровождаются подробной инструкцией, описывающей процесс оптимального разведения. Однако часто подбор титра осуществляется экспериментально. В большинстве случаев это связано с длительностью инкубации первичной сыворотки, нестабильностью окружающей температуры, плохо подобранной системой визуализации распределения первичных антител и т.д. [8, 14, 15, 24].

К числу отрицательных сторон иммунофлуоресцентной микроскопии также можно отнести непостоянство окраски субстрата в тканях, необходимость в дорогостоящем оборудовании, а также трудности, связанные с распознаванием и изучением тонких структур в ткани замороженного среза, которые не окрашиваются флуорохромами и остаются в «темном поле».

Подводя итог данного раздела, необходимо отметить, что в настоящее время исследование иммуногистохимических маркеров является процедурой, позволяющей определить наличие опухоли, ее злокачественный потенциал и прогноз, что является перспективным методом диагностики и определения в целесообразности проведения химиотерапии. Достоинством этого метода может быть неплохая специфичность и чувствительность. Однако существенным недостатком является то, что этот метод нельзя использовать для скрининга, так как для исследования берется биопсийный материал [16, 18, 19, 20].

Сравнение и применение молекулярно-генетических методов в биологии и медицине

Наиболее ярким событием биологии прошедшего десятилетия стало открытие роли микроРНК в регуляции экспрессии генов. МикроРНК представляют собой короткие молекулы, способные связываться с комплементарными участками матричной РНК. В отличие от длин-

ных молекул РНК, микроРНК обладают относительной устойчивостью и неплохо сохраняются в различных биологических образцах. В настоящее время идентифицировано около тысячи различных микроРНК, оцениваемых как молекулярно-генетические маркеры [17, 21, 22].

Молекулярно-генетическими маркерами (МГМ) называют полиморфные признаки, выявляемые с использованием ДНК- и РНК-технологий на уровне нуклеотидной последовательности ДНК для определенного гена или любого другого участка хромосомы. Исследование молекулярно-генетических маркеров представляет собой обширное поле научно-исследовательской деятельности и имеет принципиальное значение для клиники. МГМ часто определяют при подозрении на структурные и функциональные повреждения в геноме опухолевой клетки потому, что нестабильность генома является основным свойством опухолей [23, 27]. Подобные повреждения приводят к изменению экспрессии генов, которые регулируют клеточный цикл, метастатическую и инвазивную активность клеток. В результате изменяется экспрессия генов, кодирующих адгезионные белки и факторы активности неоангиогенеза, возникает инактивация генов-супрессоров, активируется теломераза в клетках опухолей. Повреждения генома могут приводить к развитию как наследственных онкологических синдромов, так и спорадических опухолей [25, 26, 28].

Учитывая вышеперечисленные аспекты, в 2016 году Всемирная организация здравоохранения (WHO) рекомендовала несколько иной подход к опухолевой классификации. Кроме того, организацией была подчеркнута необходимость использования молекулярно-генетических методов для диагностики и точного прогноза заболеваний онкологической направленности. Так, в основу новой классификации положено не только гистологическое строение того или иного новообразования, но и, в обязательном порядке, его наиболее значимая молекулярно-генетическая характеристика или хромосомная aberrация. В частности, вышеперечисленные нововведения касаются трех позиций: нейроэктодермальных опухолей, эмбриональных бластом и лимфом [29, 45].

Но даже без рекомендаций WHO в Республике Беларусь с конца 20 века начато внедрение молекулярно-диагностических аспектов в различных отраслях. На данный момент существует

несколько направлений в клинической онкологии, где активно применяются молекулярно-генетические методы [30, 31, 32]. Первым, несомненно, стоит назвать диагностику наследственных форм рака и определение маркеров последующего прогноза. Однако не менее важным является определение маркеров, свидетельствующих о начальных стадиях опухолевого процесса или о наличии микрометастазов. Если диагноз подтверждается, то следующим направлением является диагностика ДНК-маркеров, определяющих чувствительность к лекарственным препаратам, особенно к таргетной терапии [32, 33].

К наиболее известным методам молекулярно-генетического анализа можно отнести: классический цитогенетический анализ (кариотипирование), цитогенетический анализ с использованием флуоресцентных красителей (FISH), ПЦР (полимеразная цепная реакция), микрочипирование [33, 34, 35].

Кариотипом называют совокупность морфологических особенностей хромосомного набора единичной клетки живого организма [36, 44]. В свою очередь, процесс кариотипирования включает анализ числа и структуры метафазных хромосом соматических клеток с помощью цитогенетических методов. В результате кариотипирования получают описание кариотипа с указанием общего числа хромосом и набора половых хромосом. Для обозначения численных и структурных хромосомных аномалий используются специальные знаки, символы и сокращения, рекомендованные международной цитогенетической номенклатурой хромосом человека [37, 44].

Кариотипирование является обязательным компонентом постнатальной диагностики тех форм врожденной патологии, которые обусловлены аномалиями кариотипа. Аномалии кариотипа могут быть обусловлены изменениями как числа, так и структуры хромосом. Известно, что геномные мутации, включающие полиплоидию и анеуплоидию, могут возникать *de novo* в процессе гаметогенеза или в раннем эмбриогенезе, либо наследуются от родителей [37, 44].

Однако рутинность выполнения, высокие экономические затраты на проведение и часто затянутые сроки не могут поставить этот метод на первое место.

Метод FISH-анализа используют как в научной деятельности, так и в классической медицине: пре- и постнатальной диагностике, в мониторинге зигот (бластомеров) при экстракор-

поральном оплодотворении (ЭКО), в гематологической и онкологической практике, а также при наблюдении за эффектом воздействий факторов внешней среды на наследственный материал человека. Он основан на гибридизации известной по нуклеотидному составу ДНК-пробы с участком тестируемой хромосомы. Результат оценивают по метке – флуоресцентному сигналу в ожидаемом участке. В качестве ДНК-зонда могут служить относительно небольшие фрагменты ДНК, комплементарные анализируемой последовательности хромосомной ДНК (мишени) обследуемого. Размер проб может варьировать от 90 тысяч до нескольких миллионов пар нуклеотидов. Мишенью могут служить не только отдельные гены или хромосомные участки, но и целая хромосома [37, 38, 44].

К достоинствам метода можно отнести: неинвазивный забор материала и небольшой объем; непродолжительное время проведения (1–3 суток), а вот к проблемам внедрения относятся следующие: узкая коммерческая доступность; необходима подготовка узких специалистов для работы с FISH; метод не имеет единого стандарта в интерпретации результатов; утомительный ручной процесс пробоподготовки.

Диагностика с использованием биологических микрочипов в настоящее время еще нечасто применяется на практике. Не вызывает ни малейшего сомнения, что «микрочиповые» технологии, будучи описательными по своей сути, принципиально увеличили возможности экспериментальной медицины. Многие области биологических исследований получили неоценимые инструменты для генерирования новых направлений, идей, гипотез.

Биологические микрочипы – это набор молекул ДНК (реже белков), упорядоченно размещенных на специальном носителе – «платформе» (пластинка из стекла, пластика из кремния или полимерная мембрана). На каждом микрочипе может располагаться от нескольких десятков до сотен тысяч упорядоченно нанесенных микротестов или проб. ДНК-пробы могут быть нанесены на кремниевую, стеклянную, нитроцеллюлозную подложку, выращены на кварцевой подложке методом имульсионной фотолитографии или внесены в гель [33, 40, 41].

Механизм действия микрочипов основан на способности комплементарных оснований нуклеиновых кислот образовывать химические связи. Одна из комплементарных цепей ДНК (проба)

находится на «платформе», а другая – одноцепочечная ДНК-мишень (зонд), меченная флуоресцентной меткой, вносится в ДНК-чип. Наличие того или иного вещества или гена в образце определяют по люминесцентному свечению на прореагировавшем чипе. Анализ прореагировавших чипов производится автоматически с помощью чип-детектора (анализатора), который представляет собой либо флуоресцентный широкопольный микроскоп, либо специальное считывающее лазерное устройство, соединенное с видеокамерой и компьютером.

К преимуществам микрочипирования относят то, что в одном образце может быть проанализирована экспрессия сразу большого количества диагностически значимых генов; воспроизводство результатов автоматизирована; процедура занимает непродолжительное время (от 4-6 часов до суток); метод теоретически допускает неинвазивный забор материала, анализ кариотипа единичной клетки.

Проблемы внедрения метода также существуют: коммерчески доступных наборов практически нет; не представлена линейка диагностических микрочипов, сертифицированных для клинических исследований; малое число специалистов, подготовленных для работы с микрочипами; требует обязательной амплификации анализируемого материала.

ПЦР (полимеразная цепная реакция) – метод избирательного синтеза нуклеиновых кислот *in vitro*. С его помощью можно получить определенную последовательность ДНК в количестве, превышающем исходное в несколько миллионов раз [13, 16, 19, 42]. Дело в том, что все вышеперечисленные методы, кроме ПЦР, выявляют в исследуемой пробе то количество искомого объекта, которое имеется, а ПЦР позволяет за счет повторяющихся циклов синтеза увеличить количество выявляемого биообъекта, после чего проводится его детекция. Для обнаружения продуктов, полученных после амплификации, применяют гель-электрофорез, гибридизационно-ферментный анализ (ГиФА), флуоресцентную детекцию после проведения реакций (FLASH) и флуоресцентную детекцию во время проведения реакций (Real-Time PCR). Чаще всего преимущество отдается Real-Time PCR, поскольку этот способ позволяет избежать проблемы с контаминацией ампликонами. Неотъемлемым плюсом Real-Time PCR является сокращение времени проведения анализа [38, 43, 45]. Простота, высокая чувствительность

и специфичность метода ПЦР позволили ему получить широкое распространение как при проведении научных исследований, так и в лабораторно-клинической практике [10, 11, 18, 19].

К настоящему времени такое направление, как молекулярная онкология, имеет около 400 новых диагностических и прогностических показателей, которые используются в клинической практике. Уже в начале 90-х гг. XX века стали рутинно применяться ПЦР-методы для определения специфических транслокаций.

Нами была разработана тест-система для определения экспрессии гена *m-bcr/t* (9;22). Данный комплект предназначен для количественного определения слияния *bcr-abl* и транскриптов кДНК, содержащей (Ph⁺) транслокации *t*(9; 22) в главных критических точках кластера региона (*m-bcr*) *b2a2* и *b3a2*, соответственно, а также в РНК или мРНК образцах, приготовленных из нативных или очищенных человеческих белых кровяных клеток, полученных из крови или костного мозга путем аспирации. Ген *bcr* (Breakpoint Cluster Region), или зона ложного точкового кластера, известен также как антиген рака почки NY-REN. *Bcr* является одним из двух генов в комплексе *bcr-abl*, который связан с Филадельфийской хромосомой. Нормальный ген *bcr* локализован в длинном плече 22 хромосомы. В настоящее время известно, что он кодирует два основных белка, которые обладают серин-треенин киназной активностью, а также являются ГТФ-активирующими белками. В настоящее время созданная тест-система зарегистрирована в Республике Беларусь, организовано промышленное производство на Научно-производственном предприятии «Сивитал» и начато клиническое применение. Проведение количественного определения с помощью *real time PCR* *m-bcr* и *mi-bcr* как в образцах цельной крови, так и очищенных лейкоцитов или аспирата костного мозга является одним из диагностических приемов для установления диагноза, эффективности лечения и определения минимальной остаточной болезни, такой как хронический миелоидный лейкоз, ассоциированный с Филадельфийской хромосомой, и острый В-лимфобластный лейкоз. Необходимо подчеркнуть, что ПЦР-тест на транслокацию генов *bcr-abl* примерно в 10 000 раз чувствительнее и значительно специфичнее кариотипического определения «Филадельфийской хромосомы».

Что касается клиники солидных опухолей, то наибольшее признание получили молекуляр-

но-генетические тесты на амплификацию онкогенов N-myc и erbB-2. Рецепторы эпидермального фактора роста – EGFR включают группы протоонкогенов: her-1 (erbB-1), her-2/neu (erbB-2), her-3 (erbB-3) и her-4 (erbB-4). Замечено, что при раке желудка, молочной железы, поджелудочной железы и почек наблюдается максимальная экспрессия her-2/neu (erbB-2).

Нами создана, зарегистрирована в Республике Беларусь и внедрена тест-система для определения экспрессии гена her-2/neu. Комплект предназначен для количественного определения her-2/neu транскриптов. Гиперэкспрессия her-2/neu выявляется в 25-30% случаев рака молочной железы, причем в 90-95% случаев гиперэкспрессия her-2/neu является прямым результатом амплификации гена erbB-2. В доклинических и клинических исследованиях было установлено, что амплификация и/или гиперэкспрессия her-2 имеет ключевое значение в онкотрансформации и туморогенезе рака молочной железы. Гиперэкспрессия her-2/neu в опухолевой клетке коррелирует с рядом неблагоприятных факторов прогноза, а именно: размером опухоли, высокой степенью злокачественности, уменьшением рецепторов эстрогена и прогестерона в опухоли. В результате проведения исследований нами показано, что гиперэкспрессия her-2/neu является независимым прогностическим фактором для рака молочной железы с N+ и N-. Избыточная экспрессия также определяется при раке яичников, желудка, агрессивных форм рака тела матки и особенно серозного рака эндометрия.

При раке молочной железы амплификация гена erbB-2 не только является прогностическим индикатором, но и указывает на специфический спектр чувствительности опухоли к химиопрепаратам. Вовремя полученные результаты такого лабораторного исследования могут подчеркнуть необходимость увеличить интенсивность терапевтических и диспансерных мероприятий.

Известно, что в настоящее время ведутся интенсивные клинические испытания специфических ингибиторов данного рецептора для erbB-2-положительных неоплазм [23, 24, 45].

Важнейшим направлением в развитии медицины на современном этапе является индивидуализация терапии опухолей, основанная на уточнении молекулярно-генетических особенностей новообразований. Данное направление пока ещё находится на начальных этапах своего развития, однако есть все основания полагать,

что молекулярные подходы к индивидуализации противоопухолевой терапии получат бурное развитие в самое ближайшее время.

Огромный интерес вызывают клинические испытания протоколов генотерапии рака. Наиболее логичными представляются попытки «исправить» повреждения онкогенов и антионкогенов в опухолевой клетке. Однако осуществление этой идеи сталкивается с серьёзными трудностями. Они связаны не только с комплексной, множественной природой генетических повреждений в опухолях, но и с неспособностью существующих методов переноса генов поразить 100 % клеток-мишеней. Тем не менее, существует ряд научных подходов, одним из которых является стратегия, направленная на перенос в клетки костного мозга гена множественной лекарственной устойчивости – mdr1. При достижении позитивного результата это позволит существенно понизить побочные эффекты химиотерапии и, следовательно, увеличить ее интенсивность.

На современном этапе исследования некоторых ученых нацелены также на трансфекцию клеток опухоли генами, активирующими биологически интактные формы цитостатических препаратов. Такой подход обеспечит направленное антипролиферативное действие антинеопластических агентов. Уже сейчас известны генотерапевтические результаты, подразумевающие увеличение эффективности противоопухолевого иммунного ответа за счёт переноса в клетки опухоли генов комплекса HLA [1, 2, 40, 44,].

Заключение

Перспективность молекулярно-генетических диагностических подходов отрицают только самые отъявленные ретрограды. Тем не менее, вопрос о немедленном и широкомасштабном клиническом использовании предлагаемых тестов вызывает жаркие дебаты. Большинство скептиков справедливо отмечают, что практически все исследования, лежавшие в основе разработки мультигенных прогностических тестов, проигнорировали необходимость статистической поправки на статус традиционных прогностических параметров (уровень экспрессии гормональных рецепторов, степень дифференцировки опухоли, количество митозов, пролиферативный индекс Ki67 и т.д., и т.п.).

В то же время, полимеразная цепная реакция – широко применяемый метод в молекуляр-

ной биологии. Нам уже удалось доказать, что ПЦР-анализ ничем не уступает методу ИГХ. Полученные нами результаты совпадают с результатами ИГХ-исследования на 80%. Кроме того, мы считаем, что иммуногистохимия имеет свои недостатки: есть научные публикации, подтверждающие, что такой метод анализа может «пропускать» до 15% всех гормонально-зависимых опухолей.

Литература

- Иванцов, А. О. Возможности иммуногистохимического исследования в диагностике опухолей / А. О. Иванцов, Д. Е. Мацко // *Практ. онкология*. – 2011. – Т. 12, № 4. – С. 185–193.
- Руководство по иммуногистохимической диагностике опухолей человека / под ред. С. В. Петрова, Н. Т. Райхлина. – Казань : Титул, 2000. – 451 с.
- Первый опыт проведения внешнего контроля качества иммуногистохимических исследований в диагностике лимфопролиферативных заболеваний / Ю. А. Криволапов [и др.] // *Арх. патологии*. – 2011. – Т. 73, № 2. – С. 23–32.
- Криволапов, Ю. А. Применение тканевых матриц в иммуногистохимии / Ю. А. Криволапов, А. И. Храмцов // *Арх. патологии*. – 2005. – Т. 67, № 2. – С. 48–49.
- Мацко, Д. Е. Современные методы в практической онкоморфологии / Д. Е. Мацко, К. В. Шелихова // *Практ. онкология*. – 2007. – Т. 8, № 4. – С. 182–187.
- Al-Nafussi, A. Tumor diagnosis: practical approach and pattern analysis / A. Al-Nafussi. – London : CRC Press, 2005. – 1344 p.
- Бабиченко, И. И. Новые методы иммуногистохимической диагностики опухолевого роста : учеб. пособие / И. И. Бабиченко, В. А. Ковязин. – М. : РУДН, 2008. – 109 с.
- Иммуногистохимические методы : руководство / ed. G. L. Kumar, L. Rudbeck ; пер. с англ. под ред. Г. А. Франка, П. Г. Малькова. – М., 2011. – 224 с.
- Клиническое значение некоторых иммуногистохимических маркеров при немышечно-инвазивном раке мочевого пузыря / К. Н. Сафиуллин [и др.] // *Онкоурология*. – 2010. – № 4. – С. 36–41.
- Стаффорд, В. В. Применение иммуногистохимического метода в диагностике / В. В. Стаффорд // *RJOAS*. – 2016 Aug. – Vol. 8, N 56. – P. 18–21.
- Гулюкин, А. М. Значимость современных методов лабораторной диагностики и идентификации возбудителя бешенства для иммунологического мониторинга данного зооноза / А. М. Гулюкин // *Вопр. вирусологии*. – 2014. – Т. 59, № 3. – С. 5–10.
- Иммуногистохимическое исследование ушиба сердца / Ю. В. Збруева [и др.] // *Судебно-мед. экспертиза*. – 2013. – Т. 56, № 1. – С. 54–55.
- Torp, S. H. Diagnostic and prognostic role of Ki67 immunostaining in human astrocytomas using four different antibodies / S. H. Torp // *Clin. Neuropathol.* – 2002 Nov-Dec. – Vol. 21, N 6. – P. 252–257.
- Coons, A. H. Immunological properties of an antibody containing a fluorescence group / A. H. Coons, H. J. Creech, R. N. Jones // *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* – 1941 Jun. – Vol. 47, N 2. – P. 200–202.
- Fisher, C. Immunohistochemistry in diagnosis of soft tissue tumours / C. Fisher // *Histopathology*. – 2011 Jun. – Vol. 58, N 7. – P. 1001–1012.
- Livak, K. J. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2 (Delta DeltaC(T)) / K. J. Livak, T. D. Schmittgen // *Methods*. – 2001 Dec. – Vol. 25, N 4. – P. 402–408.
- Enhanced detection of Porcine reproductive and respiratory syndrome virus in fixed tissues by in situ hybridization following tyramide signal amplification / N. T. Trang [et al.] // *J. Vet. Diagn. Invest.* – 2015 May. – Vol. 27, N 3. – P. 326–331.
- Шагинян, И. А. Роль и место молекулярно-генетических методов в эпидемиологическом анализе внутрибольничных инфекций / И. А. Шагинян // *Клин. микробиология и антимикроб. химиотерапия*. – 2000. – Т. 2, № 3. – С. 82–95.
- Имянитов, Е. Н. Высокопроизводительные молекулярно-генетические методы нового поколения в диагностике и лечении новообразований / Е. Н. Имянитов // *Практ. онкология*. – 2011. – Т. 12, № 4. – С. 194–202.
- Genomic signatures of cancer: basis for individualized risk assessment, selective staging and therapy / F. L. Baehner [et al.] // *J. Surg. Oncol.* – 2011. – Vol. 103, N 6. – P. 563–573.
- Microarray: an instrument for cancer surgeons of the future / M. L. Broadhead [et al.] // *ANZ. J. Surg.* – 2010 Jul-Aug. – Vol. 80, N 7/8. – P. 531–536.
- Chon, H. S. Microarray based gene expression studies in ovarian cancer / H. S. Chon, J. M. Lancaster // *Cancer Control*. – 2011 Jan. – Vol. 18, N 1. – P. 8–15.
- Breast cancer prognosis determined by gene expression profiling: a quantitative reverse transcriptase polymerase chain reaction study / E. Espinosa [et al.] // *J. Clin. Oncol.* – 2005 Oct. – Vol. 23, N 29. – P. 7278–7285.
- American Society of Clinical Oncology/College Of American Pathologists guideline recommendations for immunohistochemical testing of estrogen and progesterone receptors in breast cancer / M. E. Hammond [et al.] // *J. Oncol. Pract.* – 2010 Jul. – Vol. 6, N 4. – P. 195–197.
- Molecular epidemiology and its current clinical use in cancer management / M. Hartman [et al.] // *Lancet. Oncol.* – 2010 Apr. – Vol. 11, N 4. – P. 383–390.
- Kaufmann, M. L. Expert Panel Members. Use of standard markers and incorporation of molecular markers into breast cancer therapy: Consensus recommendations from an International Expert Panel / M. L. Kaufmann, L. Pusztai // *Cancer*. – 2011 Apr. – Vol. 117, N 8. – P. 1575–1582.
- Имянитов, Е. Н. Молекулярная генетика в клинической онкологии / Е. Н. Имянитов, К. П. Хансон // *Сибир. онкол. журн.* – 2004. – № 2/3. – С. 40–47.
- Молекулярная генетика опухолей человека / Е. Н. Имянитов [и др.] // *Вопр. онкологии*. – 1997. – Т. 43, № 1. – С. 95–101.
- Имянитов, Е. Н. Молекулярные аспекты патогенеза первично-множественных опухолей / Е. Н. Имянитов, К. П. Хансон // *Рос. онкол. журн.* – 1998. – № 5. – С. 47–51.
- Хансон, К. П. Современные тенденции в развитии биологической терапии злокачественных опухолей / К. П. Хансон, Б. В. Афанасьев, А. Н. Берштейн // *Вопр. онкологии*. – 1996. – Т. 42, № 5. – С. 7–12.

31. Торопова, Н. Е. Молекулярно-генетические исследования в практике онкологической клиники / Н. Е. Торопова [и др.] // Изв. Самар. науч. центра Рос. акад. наук. – 2015. – Т. 17, № 2. – С. 690–696.
32. Немцова, М. В. Молекулярно-биологические маркеры в практической онкологии / М. В. Немцова, Н. Е. Кушлинский // Лаборатор. служба. – 2014. – № 1. – С. 14–22.
33. Никоненко, Т. А. Методы молекулярно-генетической диагностики сегодня / Т. А. Никоненко // Лаборатор. медицина. – 2008. – № 9. – С. 27–30.
34. Бабиченко, И. И. Новые методы иммуногистохимической диагностики опухолевого роста / И. И. Бабиченко // Вестн. РУДН. Сер. Медицина. – 2008. – № 4. – С. 94–99.
35. Опыт внедрения результатов молекулярно-генетических исследований в онкологическую клиническую практику / В. А. Горбунова [и др.] // Вестн. Москов. онкол. об-ва. – 2013. – № 2. – С. 4–5.
36. Молекулярно-генетические маркеры и персонализация лечения / И. А. Демидова [и др.] // Вестн. Москов. онкол. об-ва. – 2013. – № 2. – С. 5–6.
37. Молекулярно-генетические исследования в онкологии / Н. Н. Мазуренко [и др.] // Вестн. Москов. онкол. об-ва. – 2013. – № 2. – С. 3–4.
38. Современные молекулярно-генетические методы исследования в эпидемиологическом надзоре за вич-инфекцией (аналитический обзор) / Н. Н. Зайцева [и др.] // МедиАль. – 2014. – № 2. – С. 122–134.
39. Зборовская, И. Б. Современные стратегии исследования маркеров опухолевого роста в клинической практике / И. Б. Зборовская // Успехи молекуляр. онкологии. – 2014. – № 2. – С. 4–15.
40. A translational view of themolecular pathogenesis of lung cancer / M. Sato [et al.] // J. Thorac. Oncol. – 2007 Apr. – Vol. 2, N 4. – P. 327–343.
41. Hanahan, D. Hallmarks of cancer: the next generation / D. Hanahan, R. A. Weinberg // Cell. – 2011 Mar. – Vol. 144, N 5. – P. 646–674.
42. Langley, R. R. The seed and soil hypothesis revisited – the role of tumorstroma interactions in metastasis to different organs / R. R. Langley, I. J. Fidler // Int. J. Cancer. – 2011 Jun. – Vol. 128, N 11. – P. 2527–2535.
43. Копнин, Б. П. Современные представления о механизмах злокачественного роста: сходства и различия солидных опухолей и лейкозов / Б. П. Копнин // Клин. онкогематология. – 2012. – Т. 5, № 3. – С. 165–183.
44. Головатая, Е. И. Сравнительная характеристика методов пренатального кариотипирования / Е. И. Головатая // Вестн. БГУ. Сер. 2, Химия. Биология. География. – 2006. – № 2. – С. 39–44.
45. Новая классификация ВОЗ опухолей центральной нервной системы – вызов нейрохирургам, нейроморфологам и нейроонкологам / Д. Е. Мацко [и др.] // Рос. нейрохирург. журн. им. проф. А. Л. Поленова. – 2016. – Т. 8, № 3. – С. 5–9.

Поступила 30.12.2016 г.

Принята в печать 04.04.2017 г.

References

1. Ivantsov AO, Matsko DE. Possibilities of an immunohistochemical research in diagnostics of tumors. Prakt Onkologiya. 2011;12(4):185-93. (In Russ.)
2. Petrov SV, Raykhlin NT, red. Guide to immunohistochemical diagnostics of tumors of the person. Kazan, RF: Titul; 2000. 451 p. (In Russ.)
3. Krivolapov YuA, Peshkov MV, Leenman EE, Matsionis AE, Kovrigina AM. First experience of carrying out external quality control of immunohistochemical researches in diagnostics limfoproliferativnykh of diseases. Arkh Patologii. 2011;73(2):23-32. (In Russ.)
4. Krivolapov YuA, Khrantsov AI. Use of fabric matrixes in an immunohistochemistry. Arkh Patologii. 2005;67(2):48-9. (In Russ.)
5. Matsko DE, Shelikhova KV. Modern methods in a practical onkomorfologiya. Prakt Onkologiya. 2007;8(4):182-7. (In Russ.)
6. Al-Nafussi A. Tumor diagnosis: practical approach and pattern analysis. London: CRC Press; 2005. 1344 p.
7. Babichenko II, Kovyazin VA. New methods of immunohistochemical diagnostics of tumoral body height: ucheb posobie. Moscow, RF: RUDN; 2008. 109 p. (In Russ.)
8. Kumar GL, Rudbeck L, Frank GA, Mal'kov PG, red. Immunohistochemical methods: rukovodstvo. Moscow, RF; 2011. 224 p. (In Russ.)
9. Safiullin KN, Gorban' NA, Karyakin OB, Pugachev VV. Clinical value of some immunohistochemical markers at not muscularly - invasive cancer of a bladder. Onkourologiya. 2010;(4):36-41. (In Russ.)
10. Stafford VV. Use of an immunohistochemical method in diagnostics. RJOAS. 2016 Aug;8(56):18-21. doi: 10.18551/rjoas.2016-08.03. (In Russ.)
11. Gulyukin AM. The importance of modern methods of laboratory diagnostics and identification of the originator of a rabies for immunologic monitoring of this zoonosis. Vopr Virusologii. 2014;59(3):5-10. (In Russ.)
12. Zbrueva YuV, Kul'bitskiy BN, Kabakova SS, Dzhualyakov PG, Bogomolov DV, Fedulova MV. Immunohistochemical research of a bruise of heart. Sudebno-med Ekspertiza. 2013;56(1):54-5. (In Russ.)
13. Torp SH. Diagnostic and prognostic role of Ki67 immunostaining in human astrocytomas using four different antibodies. Clin Neuropathol. 2002 Nov-Dec;21(6):252-7.
14. Coons AH, Creech HJ, Jones RN. Immunological properties of an antibody containing a fluorescence group. Proc Soc Exp Biol Med. 1941 Jun;47(2):200-2.
15. Fisher C. Immunohistochemistry in diagnosis of soft tissue tumours. Histopathology. 2011 Jun;58(7):1001-12. doi: 10.1111/j.1365-2559.2010.03707
16. Livak KJ, Schmittgen TD. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2 (Delta DeltaC(T)). Methods. 2001 Dec;25(4):402-8. doi: 10.1006/meth.2001.1262
17. Trang NT, Hirai T, Ngan PH, Lan NT, Fuke N, Toyama K, et al. Enhanced detection of Porcine reproductive and respiratory syndrome virus in fixed tissues by in situ hybridization following tyramide signal amplification.

- J Vet Diagn Invest. 2015 May;27(3):326-31. doi: 10.1177/1040638715579260
18. Shaginyan IA. Role and the place of molecular and genetic methods in the epidemiological analysis of intrahospital infections. *Klin Mikrobiologiya i Antimikrob Khimioterapiya*. 2000;2(3):82-95. (In Russ.)
19. Imyaninov EN. High-performance molecular and genetic methods of new generation in diagnostics and treatment of neoplasms. *Prakt Onkologiya*. 2011;12(4):194-202. (In Russ.)
20. Bachner FL, Lee M, Demeure MJ, Bussey KJ, Kiefer JA, Barrett MT. Genomic signatures of cancer: basis for individualized risk assessment, selective staging and therapy. *J Surg Oncol*. 2011;103(6):563-73. doi: 10.1002/jso.21838
21. Broadhead ML, Clark JC, Dass CR, Choong PF. Microarray: an instrument for cancer surgeons of the future. *ANZ J Surg*. 2010 Jul-Aug;80(7-8):531-6. doi: 10.1111/j.1445-2197.2010.05379.x
22. Chon HS, Lancaster JM. Microarray based gene expression studies in ovarian cancer. *Cancer Control*. 2011 Jan;18(1):8-15.
23. Espinosa E, Vara JA, Redondo A, Sánchez JJ, Hardisson D, Zamora P, et al. Breast cancer prognosis determined by gene expression profiling: a quantitative reverse transcriptase polymerase chain reaction study. *J Clin Oncol*. 2005 Oct;23(29):7278-85. doi: 10.1200/JCO.2005.01.4746
24. Hammond MEH, Hayes DF, Wolff AC, Mangu PB, Temin S. American Society of Clinical Oncology/College Of American Pathologists guideline recommendations for immunohistochemical testing of estrogen and progesterone receptors in breast cancer. *J Oncol Pract*. 2010 Jul;6(4):195-7. doi: 10.1200/JOP.777003
25. Hartman M, Loy EY, Ku CS, Chia KS. Molecular epidemiology and its current clinical use in cancer management. *Lancet Oncol*. 2010 Apr;11(4):383-90. doi: 10.1016/S1470-2045(10)70005-X
26. Kaufmann ML, Pusztai L. Expert Panel Members. Use of standard markers and incorporation of molecular markers into breast cancer therapy: Consensus recommendations from an International Expert Panel. *Cancer*. 2011 Apr;117(8):1575-82. doi: 10.1002/cncr.25660
27. Imyaninov EN, Khanson KP. Molecular genetics in a clinical oncology. *Sibir Onkol Zhurn*. 2004;(2-3):40-7. (In Russ.)
28. Imyaninov EN, Kalinovskiy VP, Knyazev PG, Lyshchev AA, Novikov LB. Molecular genetics of tumors of the person. *Vopr Onkologii*. 1997;43(1):95-101. (In Russ.)
29. Imyaninov EN, Khapson KP. Molecular aspects of a pathogenesis of primary and multiple tumors. *Ros Onkol Zhurn*. 1998;(5):47-51. (In Russ.)
30. Khapson KP, Afanas'yev BV, Bershteyn AN. Current trends in development of biological therapy of malignant tumors. *Vopr Onkologii*. 1996;42(5):7-12. (In Russ.)
31. Toropova NE, Zakamova EV, Teterina YuYu, Kozlov SV, Timofeeva NV, Moroshkina GP, i dr. Molecular and genetic researches in practice of oncologic clinic. *Izv Samar Nauch Tsentra Ros Akad Nauk*. 2015;17(2):690-6. (In Russ.)
32. Nemtsova MV, Kushlinskiy NE. Molecular and biological markers in a practical oncology. *Laborator Sluzhba*. 2014;(1):14-22. (In Russ.)
33. Nikonenko TA. Methods of molecular and genetic diagnostics today. *Laborator Meditsina*. 2008;(9):27-30. (In Russ.)
34. Babichenko II. New methods immunohistochemical diagnostikiopukholevy body height. *Vestn RUDN Ser Meditsina*. 2008;(4):94-9. (In Russ.)
35. Gorbunova VA, Kolomeytseva AA, Breder VV, Besova NS, Marenich AF, Reutova EV, i dr. Experience of introduction of results of molecular and genetic researches in oncologic clinical practice. *Vestn Moskov Onkol Ob-va*. 2013;(2):4-5. (In Russ.)
36. Demidova IA, Barinov AA, Gagarin IM, Savelov NA, Stroyakovskiy DL, Popov MI, i dr. Molecular and genetic markers and personalisation of treatment. *Vestn Moskov Onkol Ob-va*. 2013;(2):5-6. (In Russ.)
37. Mazurenko NN, Tsyganova IV, Mochal'nikova VV, Anurova OS. Molecular and genetic researches in an oncology. *Vestn Moskov Onkol Ob-va*. 2013;(2):3-4. (In Russ.)
38. Zaytseva NN, Efimov EI, Nosov NN, Parfenova OV, Peksheva OYu. Modern molecular and genetic methods of a research in epidemiological surveillance behind HIV infection (state-of-the-art review). *MediAl'*. 2014;(2):122-34. (In Russ.)
39. Zborovskaya IB. The modern strategy of a research of markers of tumoral body height in clinical practice. *Uspekhi Molekuliar Onkologii*. 2014;(2): 4-15.
40. Sato M, Shames DS, Gazdar AF, Minna JD. A translational view of the molecular pathogenesis of lung cancer. *J Thorac Oncol*. 2007 Apr;2(4):327-43. doi: 10.1097/01.JTO.0000263718.69320.4c
41. Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell*. 2011 Mar;144(5):646-74. doi: 10.1016/j.cell.2011.02.013
42. Langley RR, Fidler IJ. The seed and soil hypothesis revisited – the role of tumorstroma interactions in metastasis to different organs. *Int J Cancer*. 2011 Jun;128(11):2527-35. doi: 10.1002/ijc.26031
43. Kopnin BP. Modern ideas of mechanisms of malignant body height: similarities and differences of solid tumors and leukoses. *Klin Onkogematologiya*. 2012;5(3):165-83. (In Russ.)
44. Golovataya EI. Comparative characteristic of methods of a prenatal karyotyping. *Vestn BGU Ser 2 Khimiya i Biologiya Geografiya*. 2006;(2):39-44. (In Russ.)
45. Matsko DE, Matsko MV, Ulitin AYU, Imyaninov EN. The new WHO classification of tumors of the central nervous system – a call to neurosurgeons, neuromorphologists and neurooncologists. *Ros Neurokhirurg Zhurn im prof AL Polenova*. 2016;8(3):5-9. (In Russ.)

Submitted 30.12.2016

Accepted 04.04.2017

Сведения об авторах:

Семенов В.М. – д.м.н., профессор, заведующий кафедрой инфекционных болезней, Витебский государственный орден Дружбы народов медицинский университет;
Пашинская Е.С. – к.б.н., доцент кафедры медицинской биологии и общей генетики, Витебский государственный орден Дружбы народов медицинский университет;
Побяржин В.В. – к.б.н., доцент, докторант кафедры инфекционных болезней, Витебский государственный орден Дружбы народов медицинский университет;
Субботина И.А. – к.в.н., доцент, докторант кафедры инфекционных болезней;
Шляхтунов Е.А. – к.м.н., доцент кафедры онкологии с курсами лучевой диагностики и лучевой терапии ФПК и ПК, Витебский государственный орден Дружбы народов медицинский университет;
Веремей И.С. – старший лаборант кафедры инфекционных болезней;
Семенов С.В. – аспирант кафедры эпизоотологии, Витебская государственная академия ветеринарной медицины.

Information about authors:

Semenov V.M. – Doctor of Medical Sciences, professor, head of the Chair of Infectious Diseases, Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University;
Pashinskaya E.S. – Candidate of Biological Sciences, associate professor of the Chair of Medical Biology & General Genetics, Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University;
Pobyarzhin V.V. – Candidate of Biological Sciences, associate professor, doctoral candidate of the Chair of Infectious Diseases, Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University;
Subbotina I.A. – Candidate of Veterinary Sciences, associate professor, doctoral candidate of the Chair of Infectious Diseases, Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University;
Shlyakhtunov E.A. – Candidate of Medical Sciences, associate professor of the Chair of Oncology with the courses of Radiation Diagnosing & Radiation Therapy of the Faculty for Advanced Training & Retraining, Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University;
Veremey I.S. – senior laboratory assistant of the Chair of Infectious Diseases, Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University;
Semenov S.V. – postgraduate of the Chair of Epizootology, Vitebsk State Academy of Veterinary Medicine.

Адрес для корреспонденции: Республика Беларусь, 210023, г. Витебск, пр. Фрунзе, 27, Витебский государственный орден Дружбы народов медицинский университет, кафедра инфекционных болезней. E-mail: tulovo22@rambler.ru – Побяржин Вячеслав Войтехович.

Correspondence address: Republic of Belarus, 210023, Vitebsk, 27 Frunze ave., Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University, Chair of Infectious Diseases. E-mail: tulovo22@rambler.ru – Vyacheslav V. Pobyarzhin.

ПСИХОБИОТИКИ: СПОСОБНА ЛИ МИКРОБИОТА КИШЕЧНИКА ОКАЗЫВАТЬ ВЛИЯНИЕ НА ПСИХИЧЕСКОЕ ЗДОРОВЬЕ ХОЗЯИНА?

КИРПИЧЕНКО А.А., КИМ И.Ю.

Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет, г.Витебск,
Республика Беларусь

Вестник ВГМУ. – 2017. – Том 16, №2. – С. 26-42.

PSYCHOBOTICS: CAN GUT MICROBIOTA INFLUENCE HOST'S MENTAL HEALTH?

KIRPICHENKA A.A., KIM I.Y.

Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University, Vitebsk, Republic of Belarus

Vestnik VGMU. 2017;16(2):26-42.

Резюме.

Несмотря на то, что начало изучению взаимоотношений между кишечником и головным мозгом, между микрофлорой и хозяином положено учеными, работавшими на рубеже XIX и XX веков, взгляд на микробиоту как на одну из основных детерминант здоровья, в том числе психического, получил развитие только сейчас. Изучение процессов, происходящих на микробиом-кишечно-мозговой оси, открывает перспективы применения нового метода в комплексной терапии депрессивных и тревожных расстройств, имеющего патогенетическую направленность.

В обзоре кратко рассмотрены современные представления о микробиоте кишечника, ее составе и функциях; систематизированы имеющиеся в научной литературе данные о влиянии микробиоты на развитие и течение тревожных и депрессивных расстройств; приведены результаты первых клинических испытаний лекарственных средств, получивших название «психобиотики»; выделены основные патогенетические механизмы депрессии и тревоги, являющиеся мишенью для анксиолитического и антидепрессивного действия психобиотиков.

Ключевые слова: кишечный микробиом, пробиотики, депрессия, тревога.

Abstract.

Despite the fact that the beginning of the study of the gut-brain and microflora-host relationships was initiated by the scientists on the borderline between the 19th and the 20th centuries, the theory considering the microbiota as one of the main determinants of health, including the mental one, has been developed only these days. The study of the processes occurring on the microbiome-gut-brain axis offers the challenge for the application of this new pathogenetically oriented method in the complex treatment of depressive and anxiety disorders.

In the present review the current notions of the gut microbiota, its composition and functions are briefly considered; the available scientific literature data on the influence of the microbiota on the development and course of anxiety and depression disorders are systematized; the results of the first clinical trials of medicines called «psychobiotics» are presented; the main pathogenetic mechanisms of depression and anxiety being the target for anxiolytic and antidepressant effects of psychobiotics are outlined.

Key words: intestinal microbiome, probiotics, depression, anxiety.

В последнее время в научной литературе отмечается актуализация темы взаимоотношений между пищеварительной и нервной системами, начало изучению которых было положено И.П. Павловым более ста лет назад [1]. Согласно современным представлениям, эти взаимоотноше-

ния реализуются посредством кишечно-мозговой оси (КМО) – бинаправленной коммуникативной системы, с помощью которой мозг модулирует функции желудочно-кишечного тракта и наоборот [1]. Данная система включает нервные, иммунные, эндокринные и паракринные меха-

низмы [2, 3]. Нервный компонент представлен блуждающими нервами и энтеральной нервной системой [2, 3, 4]. Примером кооперации нейро-гуморального и иммунного компонентов является регуляция взаимоотношений между мозгом и микрофлорой кишечника [5].

Взросший интерес к роли микрофлоры в норме и при патологии также логично связан с развитием методов молекулярной генетики и omics-технологий, как и последовавший за «Геномом человека» глобальный проект «Микробиом человека», стартовавший в 2006 году [6]. Микрофлоре посвящен и европейский проект «Метагеномика желудочно-кишечного тракта», работающий с 2008 года, а в России в 2009 году запущен Русский Метагеномный проект, участие в котором принимают 14 организаций [7, 8]. На сегодняшний день результаты расшифровки микробиомов позволили сделать ряд открытий и привели к пониманию микрофлоры как одного из условий нормы и патологии организма хозяина, при этом микрофлора кишечника представляет особый интерес ввиду сложности качественного и количественного состава, а также выполняемых функций, что позволило еще в начале 20 века И.И. Мечникову сравнить ее с печенью и предложить рассматривать в качестве отдельного органа [1].

Известно о существовании связей между нарушением ранней бактериальной колонизации или микроэкологии кишечника с заболеваниями системы иммунитета [9], болезнями системы кровообращения [7, 10], ожирением [7, 11, 12-14], сахарным диабетом 2 типа [7, 15], нейродегенеративными заболеваниями [16], аутизмом [13, 17, 18], синдромом хронической усталости [14], синдромом дефицита внимания с гиперактивностью [12].

Исследования последних десятилетий также хорошо показали роль микробиоты в развитии воспалительных заболеваний кишечника. Было установлено, что нарушения микроэкологии кишечника связаны с СРК и другими хроническими воспалительными заболеваниями кишечника, что обуславливает эффективность пробиотиков в их комплексной терапии [14, 19, 20-22].

С другой стороны, давно отмечено, что кишечные инфекции и хронические воспалительные заболевания сопровождаются тревожными, депрессивными расстройствами, нарушениями когнитивной сферы у 60% пациентов, а на коморбидность запоров тяжелым депрессиям обращал

внимание еще Гиппократ [1, 5, 12, 20, 23-25]. Возможно, именно это послужило силлогистической основой первых исследований, направленных на изучение влияния микробиоты на развитие тревожных и депрессивных расстройств и оценку терапевтического потенциала пробиотиков в отношении этих психических расстройств.

Результаты исследований, проведенных в этой области в течение последних 10-15 лет, позволили заведующему кафедрой психиатрии Национального Университета Ирландии в Корке, профессору Тимоти Динану и соавторам предположить, что внутри группы пробиотиков можно выделить более узкую группу лекарственных средств – психобиотики.

Согласно ВОЗ, пробиотики – это «живые микроорганизмы, которые при применении в адекватных количествах вызывают улучшение здоровья организма-хозяина» [27]. Существуют разногласия относительно отнесения пробиотиков к группе лекарственных средств, пищевым продуктам либо пищевым добавкам. Микроорганизмы считаются пробиотиками, если они отвечают следующим критериям Продовольственной и сельскохозяйственной организации при ООН и ВОЗ: непатогенны и нетоксичны, выживают в кишечнике, сохраняют стабильность состава и жизнедеятельность в течение всего срока хранения, состоят из живых клеток, которые обладают высокой адгезивной активностью и антагонистической способностью к патогенным и условно-патогенным микроорганизмам, не угнетают нормальную микрофлору, имеют генетический паспорт и доказательство генетической стабильности [28]. При приеме внутрь далеко не все пробиотики достигают кишечника жизнеспособными из-за повреждающего действия желудочного сока, однако установлено, что при попадании даже погибших пробиотических микроорганизмов в кишечник цитозин-фосфат-гуанозиновые последовательности их ДНК распознаются антигенпрезентирующими клетками и вызывают специфические эффекты [29].

В свою очередь психобиотики определяются как живые микроорганизмы, которые при применении в адекватных количествах способны оказывать благотворный эффект на здоровье пациентов, страдающих психическими расстройствами [30].

Цель работы – рассмотреть современные представления о микробиоте кишечника, ее составе и функциях; систематизировать имею-

щиеся в научной литературе данные о влиянии микробиоты на развитие и течение тревожных и депрессивных расстройств; выделить основные патогенетические механизмы депрессии и тревоги, являющиеся мишенью для анксиолитического и антидепрессивного действия психобиотиков.

Кишечная микробиота: состав и функции

Общее число микроорганизмов, населяющих различные отделы человеческого тела, составляет 1×10^{14} , и, хотя общая масса микробов в 20 раз меньше массы человека, совокупность белок-кодирующих генов микробиоты (микробиом) превосходит количество генов человека в 360 раз [6, 8]. Полученная на сегодняшний день информация служит основанием рассматривать совокупность всех микроорганизмов и макроорганизма в качестве «суперорганизма» [1, 4, 7], а представление о микрофлоре как об органе («забытом органе» [11]) возвращается и набирает популярность [16]. Примечательно, что микрофлора в целом удовлетворяет определению «орган»: это структура, состоящая из клеточных элементов и выполняющая одну или несколько специализированных функций [17]. 75-78% всей микрофлоры населяет желудочно-кишечный тракт, достигая наибольшей плотности в толстой кишке и составляя около 50% ее содержимого [4,7]. В суперорганизме человека и микрофлоры этот отдел с позиции метаболомики – науки, изучающей совокупность низкомолекулярных метаболитов всего организма человека и изменение ее состава в ответ на различные патофизиологические воздействия, – представляет собой своеобразный биореактор с огромным метаболическим потенциалом, определяемым, прежде всего, именно возможностями микроорганизмов [31]. Сотрудничество макроорганизма и микроорганизмов, населяющих кишечник, осуществляется благодаря явлению «метаболической интеграции», при этом макроорганизм получает целый ряд ключевых метаболитов, не только поддерживающих энергетический баланс, но и активно участвующих в регуляции экспрессии его генов, иммунomodуляции и нейротрансмиссии [4, 31].

Микробиота кишечника представлена про- и эукариотами, а также вирусами (в основном бактериофагами). Эукариотическую часть составляют грибы и простейшие. Прокариотическая часть представлена 1000-1150 видами бак-

терий (минимум 160 у каждого индивида) [7]. Таксономическое разнообразие кишечной микробиоты невелико у детей до 2,5 лет, достигает максимума у взрослых и снижается у пожилых, а также при лечении антибиотиками и некоторых заболеваниях [32]. Результаты метагеномных исследований прокариотов микрофлоры кишечника позволили выделить три энтеротипа, различающихся по видовому и функциональному составу [4]. Первый энтеротип обогащен бактериями родов *Bacteroides* и *Parabacteroides*, *Prevotella* и *Desulfovibrio* преобладают во втором энтеротипе, а *Ruminococcus* и *Blautia* – в третьем. Хотя предикторами энтеротипа, вероятно, не являются ни национальность, ни возраст, ни пол, ни индекс массы тела, принадлежность к энтеротипу может определяться сложным сочетанием функциональных параметров организма-хозяина, реактивностью иммунной системы и физиологическими особенностями желудочно-кишечного тракта, что позволит в перспективе использовать энтеротипы в качестве прогностических и диагностических инструментов [4, 7]. Наиболее достоверна корреляция энтеротипа с характером питания: так, избыточность бактерий рода *Bacteroides* в толстой кишке была проассоциирована с рационом, богатым белками и животными жирами, а бактерий рода *Prevotella* – с преимущественно углеводной диетой [18, 19]. Кроме энтеротипов, выделено так называемое филогенетическое ядро микрофлоры – группа доминирующих микроорганизмов, встречающихся более чем у половины здоровых лиц [4]. Изменения в количественном и качественном составе ключевой микрофлоры, вероятно, могут приводить к драматическим нарушениям гомеостаза и в организме хозяина, способствуя развитию и прогрессированию хронических заболеваний. В этом контексте более удобным представляется рассмотрение ядра микрофлоры не с позиции генетических особенностей, а с позиции выполняемых функций. В этой связи в 2015 году сотрудником лаборатории прикладной микробиологии ФГУП «Государственный научно-исследовательский институт особо чистых биопрепаратов» (г.Санкт-Петербург) Ситкиным С.И. и соавторами была предложена концепция филометаболического (филофункционального) ядра как метаболически значимой части микрофлоры кишечника [4].

Прежде чем рассмотреть функции микрофлоры, стоит оговорить термины, которыми оперируют ее современные исследователи. Об-

суждая нейрофизиологическую регуляцию, все чаще в последнее время говорят не о «кишечно-мозговой оси» («gut-brain axis»), а о «микробиом-кишечно-мозговой оси» («microbiome-gut-brain axis») [4, 17, 19, 20]. Как указывалось выше, микробиом – это совокупность генов микроорганизмов, населяющих организм хозяина [19]. Термин «микробиота», сравнительно недавно появившийся в научной литературе, эквивалентен и предпочтителен термину «микрофлора» [32, 33].

В организме хозяина микробиота выполняет следующие функции: защитную, пищеварительную, метаболическую, эндокринную и иммуномодулирующую.

Защитная функция. Как известно, кишечная микробиота, населяющая организм человека, в биотопе может находиться либо в свободном состоянии (15%), либо в связанном (85%), формируя биопленку, чем обусловлена более высокая эффективность генетических методов ее изучения по сравнению с бактериологическими, для которых используется посев кала [7]. Биопленка – особая форма организации микробиоты, представляющая собой хорошо взаимодействующее сообщество микроорганизмов. Внутри биопленки микроорганизмы функционируют как многоклеточный организм, что способствует сохранению и нарастанию бактериальной популяции и регулирует микробиоценоз [7, 34]. Также в биопленку включена структура, являющаяся производной продуктов жизнедеятельности микроорганизмов и клеток тканей, на которых они адгезированы. Биопленки можно расценивать как своеобразный буфер между окружающей средой и внутренней средой организма хозяина, обеспечивающий колонизационную резистентность в отношении потенциально болезнетворных микроорганизмов за счет образования бактериостатических низкомолекулярных метаболитов, деградации бактериальных токсинов, деконъюгации желчных кислот и продукции широкого спектра антимикробных веществ семейства бактерицинов [1, 21, 33]. Дополнительными защитными механизмами являются блокада клеточных рецепторов – мест прикрепления патогенных микроорганизмов, – и жесткая конкуренция за питательный субстрат с бактериями, не относящимися к филофункциональному ядру [4, 7, 33].

Пищеварительная функция обеспечивается синтезом бактериями ди- и полисахаридаз, гликозидаз и липаз. Ключевая роль в процессах деполимеризации субстратов этих фермен-

тов принадлежит бактериям родов *Bacteroides* и *Bifidobacterium*. Также бактерии вырабатывают деконъюгазы желчных кислот, что обеспечивает их гипохолестеринемический эффект [17, 33].

Метаболическая функция микробиоты состоит в синтезе эссенциальных нутриентов – витаминов группы В (B_1 , B_2 , B_3 , B_6 , B_9), биотина, витамина К, синтезе аминокислот – аргинина, глутамина и триптофана, метаболизации ксенобиотиков, синтезе короткоцепочечных жирных кислот. Детоксицирующая способность индигенной микрофлоры кишечника сопоставима с детоксицирующей функцией печени. Кроме того, микробиота активно участвует в обмене микроэлементов (Na, K, Ca, Mg, Zn, Fe, Cu, Mn, P, Cl и др.) [17, 33].

Эндокринная функция микробиоты заключается в ферментативной трансформации сложных стероидных соединений и производных азота, относимых к классу прогормонов [1, 12].

Иммуномодулирующей функции микробиоты сегодня уделяется много внимания, особенно в исследованиях, проведенных в рамках гигиенической гипотезы и теории старых друзей [35, 36]. Данная теория исходит из принципа, гласящего, что эволюция превращает неизбежное в необходимость. Применимо к микробиоте это означает, что любой микроорганизм, присутствовавший в организме хозяина достаточную часть эволюционного пути млекопитающих, «вписан» в его геном [35]. Общая эволюционная судьба человека и его микробиоты, взаимоотношения между которыми строятся по принципу мутуализма, имеет важное значение для поддержания здоровья человека, а экологические и генетические изменения, способствующие их разобщению, могут привести к развитию заболеваний [4]. Согласно гигиенической гипотезе, избыточная стерильность современного образа жизни лишает систему иммунитета достаточного количества стимулов для ее формирования в раннем онтогенезе, что объясняет рост удельного веса аллергической и аутоиммунной патологии после 60-ых годов прошлого века [11, 35-59]. Установлению точных механизмов, которыми опосредовано влияние микроорганизмов на развитие системы иммунитета и не только, посвящены исследования т.н. безмикробной жизни, проводимые на гнотобионтах. Иммуномодулирующие свойства микробиоты заключаются в усилении фагоцитарной активности и продукции IgA. Кроме того, микробиота влияет на уровень цитокинов и взаимодействует

с самым большим органом лимфоидной системы в человеческом теле, продуцирующем около 80% иммунных клеток, – с кишечно-ассоциированной лимфоидной тканью (КАЛТ) [21].

История и стратегии исследования влияния микробиоты на психическое здоровье

Первое предположение о возможности использовать представителей нормальной микрофлоры в терапии депрессивных расстройств сделано в 1923 году доктором Филлипсом, который отмечал улучшение настроения у пациентов с меланхолией после курса лечения живыми кислотолюбивыми бактериями в желатиновых капсулах, хотя роль первооткрывателя общих позитивных эффектов применения продуктов, содержащих живых представителей нормальной микрофлоры, принадлежит И.И. Мечникову [14, 38]. Именно И.И. Мечников в 1907 году предположил, что применение *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *Bulgaris* способно замедлить старение.

В 2001 году интерес психиатров к желудочно-кишечному дискомфорту и нарушениям микроэкологии кишечника у пациентов возобновился после того, как доктором Бентоном было отмечено существование корреляции между частотой запоров и сниженным настроением [24]. В 2005 году Alan C. Logan и Martin Katzman предположили, что пробиотики могут выступать в качестве средства адьювантной терапии депрессии благодаря своей способности подавлять низкоуровневое воспаление, участвовать в антиоксидантной защите организма и стимулировать выработку BDNF – нейротрофического фактора мозга, вовлеченного в процессы роста и развития нейронов и патогенез тревоги и депрессии [19, 40, 41].

Результаты исследований, проведенных в течение 11 лет, прошедших с момента публикации данной статьи, не оставляют сомнений в участии нарушений микробиом-кишечно-мозговой оси в патогенезе тревожных и депрессивных расстройств и возможности их коррекции на уровне микробиоты. По стратегии исследования, нацеленные на изучение роли микробиоты в поддержании здоровья и развитии болезни, могут быть разделены на 5 групп:

- 1) Выполненные на гнотобиотических животных;
- 2) Трансплантация кишечной микробиоты;
- 3) Установление микробиотических осо-

бенностей, характерных для различных заболеваний;

4) Инфицирование как модель нарушения микроэкологии кишечника;

5) Изучение эффектов пробиотиков у лабораторных животных и людей (как в условиях здоровья, так и при патологии).

Гнотобиология и трансплантация кишечной микробиоты

Использование гнотобионтов дает возможность оценить влияние микробиоты на все аспекты физиологии. Данный метод исходит из стерильности внутриутробного существования, родоразрешения путем кесарева сечения и содержания животных в стерильных боксах, что предотвращает постнатальную колонизацию [19]. Сравнение поведенческих, биохимических, морфологических параметров стерильных (GF, germ-free) животных с беспатогенными (SPF, specific pathogen free, – животные, свободные от специфической патогенной микрофлоры, содержащей только представителей нормальной для данного вида микроэкологической композиции), позволил сделать ряд выводов. Установлено, что стадия колонизации кишечника микробиотой необходима для развития и созревания центральной и энтеральной нервных систем мышей; GF мыши более восприимчивы к инфекции; в ЖКТ GF животных выявлены следующие изменения: снижена активность и скорость выработки пищеварительных ферментов, мышечный слой толстых органов утончен, перистальтика замедлена; слепая кишка стерильных животных увеличена в размерах, а пейеровы бляшки уменьшены; уровень экспрессии генов, кодирующих ключевые ферменты синтеза и транспорта нейротрансмиттеров, снижен [11, 42-45]. Указанные нарушения восстанавливались при заселении GF животных микрофлорой, полученной от здоровых лабораторных мышей.

В 2004 году N. Sudo и соавторами было обнаружено, что экспериментальный стресс вызывает неадекватную активацию гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой оси (HPA) у гнотобиотических мышей, сопровождающаяся чрезмерной выработкой адренокортикотропного гормона и кортикостерона. Добиться частичного снижения неадекватно усиленной стрессовой реакции GF удавалось с помощью колонизации их ЖКТ микробиотой, полученной

от SPF-мышей. Интенсивность активации НРА возвращалась к норме после комбинирования колонизации гнотобионтов с введением в композицию *Bifidobacterium infantis*. Кроме того, у гнотобионтов был зафиксирован низкий уровень BDNF [46].

У мышей различных пород есть существенные отличия не только в физиологии и поведении, но и в композиции микроорганизмов, населяющих их кишечники, что было доказано в 2011 году. В эксперименте участвовали 4 группы мышей – 2 группы линии BALB/c (GF и SPF) и 2 группы линии NIH Swiss (также GF и SPF). Известно, что мыши линии NIH Swiss более любопытны, чем BALB/c. В ходе эксперимента была проведена колонизация GF групп каждой линии микробиотой, полученной от SPF группы противоположной породы. Мыши группы GF-BALB/c после колонизации их микробиотой SPF-NIH Swiss продемонстрировали усиление исследовательского инстинкта: кроме того, у них возросла экспрессия BDNF в гиппокампе. У мышей группы GF-NIH Swiss, колонизированных микробиотой от SPF-BALB/c, напротив, отмечалось ослабление исследовательского инстинкта [47].

Особенности микробиоты у пациентов с тревогой и депрессией

Применение метода полного секвенирования с использованием генетической платформы Illumina позволило обнаружить взаимосвязь между профилем кишечной микрофлоры и тревожно-депрессивными расстройствами: бактерии рода *Alistipes* были избыточно представлены на фоне стресса, депрессии, тревоги, а бактерии рода *Oscillibacter*, продуцирующие валериановую кислоту, преобладали в профиле кишечной микробиоты только у пациентов с депрессией [48]. Примечательно, что валериановая кислота микробного происхождения, конкурентно связываясь с ГАМК-рецепторами, усиливает дисбаланс в ГАМК-ергической системе головного мозга, характерный для пациентов с депрессией.

Инфицирование как модель нарушения микрözкологии кишечника

К этой группе относятся исследования, нацеленные на поиск потенциальных «возбудителей» депрессивного либо тревожного расстройства. Доказано, что экспериментальная инфекция

C. Jejun и *C. Rodentium* запускает ранние (в течение 6 часов) изменения в поведении грызунов, включающие в себя анорексию и тревогоподобную реакцию, при этом поведенческие изменения развиваются на фоне отсутствия системного иммунного ответа и кишечного воспаления [14, 25, 41, 49]. Также установлено, что заражение нематодами *T. muris* может приводить к развитию у мышей депрессоподобной реакции, купируемой противовоспалительной терапией либо пробиотиками [25]. При этом стоит отметить, что эффект бактерий-«возбудителей» тревоги опосредован блуждающим нервом (не развивался у грызунов после субдиафрагмальной ваготомии), в то время как заражение *T. muris* приводило к развитию депрессоподобной реакции как у ваготомизированных, так и у не ваготомизированных мышей [25, 41, 49]. Также существует модель экспериментального колита, вызванного не биологическим фактором, а химическим (3% раствор сульфата натрия), ведущего к развитию тревогоподобной реакции у мышей. Ваготомия, однако, приводила к отсутствию симптомов тревоги у мышей, подвергнутых операции до начала курса сульфата натрия [50].

Моно- и мультивидовые психобиотики в лечении тревоги и депрессии

Исследования, по стратегии отнесенные к пятой группе, могут быть разделены на исследования доклинического и клинического уровня, хотя более удобно рассматривать их на основе вида изученных бактерий, входящих в состав пробиотического средства. Оценка эффектов пробиотиков у животных проводится с использованием специальных поведенческих тестов, лабораторных и гистологических методов исследования, у людей применяются различные психометрические шкалы, лабораторные и инструментальные методы.

Lactobacillus casei Shirota показали свою эффективность в снижении выраженности симптомов тревоги, оцененных по шкале Бэка у 39 пациентов с синдромом хронической усталости. Также по результатам бактериологического исследования кала испытуемых до и после 2-месячного курса приема пробиотиков было отмечено достоверное увеличение содержания не только бактерий рода *Lactobacillus*, но и рода *Bifidobacteria* [14].

Кроме того, было изучено влияние

Lactobacillus casei штамм Shirota на настроение здоровых людей. Для этого 124 здоровых испытуемых были разделены на контрольную и исследуемую группу; участники из опытной группы в течение 20 дней получали содержащий пробиотик молочный напиток, на 10-ый и 20-ый день, заполняя опросник POMS (Profiles of Mood States) для определения типа настроения. Испытуемым контрольной группы был предложен молочный напиток, имевший сходные с пробиотическим органолептические свойства, но не содержащий бактерий. Было установлено, что употребление молочного напитка, содержащего пробиотик, достоверно улучшает настроение у тех участников исследования, чье настроение изначально было сниженным. Примечательно, что, по результатам опросника для оценки пищевого поведения (Glia и Lindberg, 1997), улучшение настроения не было связано с изменением частоты дефекации [24].

L. Desbonett и соавторы из Национального Университета Ирландии в Корке продемонстрировали антидепрессивный эффект *B. Infantis* у здоровых крыс, подвергнутых стрессу с помощью теста «вынужденное плавание» (forced-swim test). В 2008 году ими было установлено, что терапия пробиотиками приводила к снижению повышенного в результате тестирования уровня провоспалительных цитокинов, повышению уровня сывороточного триптофана и кинуреновой кислоты, являющейся нейропротективным метаболитом триптофана [50, 51].

Также в 2010 году ими было доказано, что употребление *B. Infantis* приводило к нормализации поведения и иммунного статуса, повышению мотивации, оцененной с помощью теста «вынужденное плавание», восстановлению сниженного уровня норадреналина в стволе мозга в модели «раннее разлучение с матерью» (maternity separation model). Модель MS является экспериментальной моделью депрессии у грызунов и ведет к длительной активации НРА оси с повышением уровня мРНК кортикотропин-релизинг-фактора в миндалине, нарушению микроэкологии кишечника со снижением бактерий рода *Lactobacillus*, снижению мотивации в тесте «вынужденное плавание», повышению уровня периферического провоспалительного ИЛ-6 [52].

B. Longum и B. Breve. Другая группа исследователей из того же университета во главе с Н.М. Savignac в 2014 году показала, что *B. Longum* штамм 1714 способны ослаблять экспериментально вызванные стресс-реакцию, де-

прессо- и тревогоподобное поведение у мышей линии BALB/c, в то время как *B. Breve* штамм 1205 ослабляет только тревогоподобное поведение, индуцируя при этом потерю массы тела [20].

Также в экспериментальной модели тревоги на фоне кишечного воспаления, вызванного заражением нематодами *T. Muris*, поведение мышей нормализовалось на фоне перорального назначения *B. Longum*, которые, в отличие от не повлиявшей на уровень BDNF противовоспалительной и иммунотерапии, повышали его содержание в гиппокампе, но не влияли на профиль провоспалительных цитокинов и уровень кинуренина в сыворотке крови [25].

Анксиолитический эффект *B. Longum* был продемонстрирован и в экспериментальной модели химического колита, ведущего к развитию тревогоподобной реакции у мышей. Как и в исследовании с заражением *T. Muris*, пробиотик не оказывал противовоспалительного действия ни по данным гистологического исследования препаратов пораженной толстой кишки, ни по данным оценки миелопероксидазы как маркера воспаления. Интересно отметить, что анксиолитического эффекта не удалось добиться у мышей, подвергнутых ваготомии после курса сульфата натрия, но до лечения пробиотиком [53].

В исследовании J. A. Bravo из Национального Университета Ирландии в Корке, проведенном вместе с соавторами из канадского государственного университета Макмастера в 2011 году, была продемонстрирована способность бактерий вида *L. rhamnosus* нормализовать повышенный уровень кортикостерона и тревого- и депрессоподобные изменения в поведении у мышей, причем эти эффекты не наблюдались у животных, предварительно подвергнутых субдиафрагмальной ваготомии, что подтверждает роль блуждающего нерва как посредника в «микробиом-кишечно-мозговой оси». Кроме того, было отмечено, что применение пробиотика, содержащего *L. rhamnosus*, приводило к активации ГАМК-ергической трансмиссии в поясной извилине и префронтальной коре и ее снижению в миндалине, голубом пятне, гиппокампе, а также к снижению экспрессии GABA α 2 рецепторов в префронтальной коре и миндалине, но повышению ее в гиппокампе. Эти рецепторы представляют важную фармакологическую цель в терапии стресс-индуцированных психических расстройств [54].

Бактерии *L. helveticus* NS8, как оказалось, способны уменьшать выраженность симптомов

тревоги и улучшать когнитивные функции у крыс линии Sprague-Dawley в экспериментальной модели гипераммониемии, симулирующей печеночную энцефалопатию. Было установлено, что терапия пробиотиком, содержащим *L. helveticus*, приводила к достоверному снижению выраженности симптомов тревогоподобной реакции, оцененной с помощью теста приподнятого крестообразного лабиринта, снижению провоспалительных маркеров в сыворотке крови, снижению скорости метаболизма 5-гидрокситриптамина и улучшению когнитивных функций, оцененных с помощью теста водного лабиринта Морриса [55].

Cl. butyricum показали эффективность в отношении тревоги у пациентов, перенесших ларингэктомию. Пробиотик либо плацебо назначались за 2 недели до операции. По сравнению с пациентами контрольной группой, пациенты опытной группы продемонстрировали достоверно более низкие уровни тревоги по шкале Гамильтона (HARS) [56].

L. Lactobacillus pentosus var. plantarum C29, предположительно, могут оказаться эффективными в отношении депрессии благодаря способности стимулировать выработку BDNF и снижать уровень провоспалительных цитокинов сыворотки крови. Данные эффекты были обнаружены после 8-недельного курса приема пробиотика с *L. plantarum* крысами линии Фишер. Также было отмечено, что употребление пробиотика положительно повлияло на сниженные в связи с возрастом когнитивные функции крыс, оцененные в тесте водного лабиринта Морриса. Среди других биохимических эффектов *L. plantarum* зафиксировано предупреждение активации ядерного фактора κB в тканях мозга. NF- κB регулирует воспаление, иммунный ответ, деление клеток и выступает в качестве проапоптотического сигнала, играя роль в патогенезе деменции и инсульта [57].

L. farciminis оказались эффективны в отношении повышенной проницаемости стенки кишечника кишки, вызванной стрессом ограничения (PRS, partial restraint stress) у крыс. Известно, что повышенная проницаемость кишечной стенки, ассоциированная с транслокацией липополисахаридов (ЛПС), ведет к развитию депрессоподобной реакции у грызунов. Помимо повышения уровня ЛПС в портальной крови, были зарегистрированы следующие биохимические изменения в сыворотке крови крыс, прошедших PRS: повышенный уровень сывороточного АКТГ

и кортикостерона, гипоталамического КРФ и провоспалительных цитокинов. Пероральный прием *L. farciminis* предотвращал развитие гиперпроницаемости кишечной стенки и транслокацию ЛПС [58]. Предположение о том, что транслокация ЛПС является одним из патофизиологических механизмов депрессии, также подтверждается данными о достоверно более высоком уровне IgM и IgA против ЛПС бактерий (*Hafnia*, *Citrobacter*, *Klebsiella*, *Morganella*, *Pseudomonas*) у пациентов с депрессией по сравнению со здоровыми лицами [5]. Примечательно, что усиленная транслокация ЛПС в плазму крови и затем через ГЭБ в мозг является причиной нарушения когнитивных функций у пациентов с ВИЧ, поскольку снижение уровня CD4 Т-лимфоцитов приводит к повреждению слизистой кишечника и ее гиперпроницаемости [1].

Известно и о доклиническом и клиническом опыте применения мультивидовых пробиотиков, содержащих 2 и более вида живых представителей нормальной микрофлоры. Так, в 2014 году было продемонстрировано, что пробиотический комплекс, содержащий *L. helveticus* R0052 и *Bifidobacterium longum* R0175, обладает анксиолитическим эффектом, подавляет апоптоз клеток лимбической системы в экспериментальной модели депрессии и гиперпроницаемость кишечной стенки у мышей [59]. Назначение этого пробиотического комплекса здоровым испытуемым людям на 30 дней привело к достоверному снижению уровня кортизола в моче, уровня тревоги и депрессии по HADS, снижению баллов по шкале самообвинения и повышению баллов по шкале решения проблем в опроснике «Перечень способов coping» («Ways of Coping Checklist», Lazarus и Folkman, 1984) [59].

Пробиотический комплекс, содержащий *Bifidobacterium animalis*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus bulgaricus* и *Lactococcus lactis*, назначенный 12 здоровым женщинам 4-недельным курсом, оказался способным модулировать активность головного мозга в покое и эмоциональную реакцию испытуемых по данным МРТ [60].

В рандомизированном двойном слепом плацебо-контролируемом исследовании клинического и метаболического ответа пациентов с депрессией на 8-недельную терапию пробиотическим комплексом, содержащим *L. acidophilus*, *Lactobacillus casei* и *Bifidobacterium bifidum*, проведенном в 2015 году, была показана способность пробиотика достоверно снижать уровень депрес-

сии, оцененный по шкале Бэка. Также было отмечено, что употребление пробиотического комплекса привело к достоверному повышению уровня сывороточного глутатиона и снижению уровня сывороточного инсулина, но не влияло на глюкозу плазмы, липидный профиль и мощность антиоксидантной системы организма [61].

Пробиотический комплекс, содержащий *Bifidobacterium bifidum* W23, *Bifidobacterium lactis* W52, *L. acidophilus* W37, *Lactobacillus brevis* W63, *Lactobacillus casei* W56, *Lactobacillus salivarius* W24 и *Lactococcus lactis* W19 и W58, был назначен на 4 недели 20-ти здоровым испытуемым [62]. С помощью индекса Лейдена была оценена их когнитивная реактивность на сниженное настроение. Когнитивная реактивность является проявлением когнитивной ригидности как пациентов с депрессией, так и склонных к депрессии здоровых лиц, и характеризуется активацией дезадаптивных негативных мыслительных паттернов в ответ на триггер в виде негативной эмоции. Когнитивная ригидность приводит к снижению осознанности когнитивных процессов и руминации [63]. Было показано, что по сравнению с контрольной группой, получавшей плацебо, у добровольцев из исследуемой группы когнитивная реактивность достоверно снизилась вместе с уровнем руминации и агрессивных мыслей [62].

Мишени для антидепрессивного и анксиолитического действия психобиотиков

Можно выделить следующие механизмы, благодаря которым психобиотики способны оказывать положительное влияние на психическое состояние пациентов с тревогой и депрессией.

Модуляция активности нейронов энтеральной нервной системы (ЭНС). ЭНС - это комплекс периферических сетей, включающий в себя более 500 млн афферентных, двигательных нейронов и глиальных клеток. Влияние микробиоты на активность ЭНС подтверждено в исследованиях, проведенных на гнотобионтах, в которых было установлено, что у стерильных мышей снижено количество ганглиев ЭНС и наблюдается утончение нервных волокон. Особого внимания заслуживает и концепция Savidge и соавторов о единых механизмах регуляции кишечного и гематоэнцефалического барьера. Было показано, что глиальные клетки кишечника морфологически, иммуногистохимически и функционально схожи

с астроцитами [1].

Влияние на экспрессию каннабиоидных и опиоидных рецепторов эпителиальных клеток кишечника у грызунов было обнаружено у *Lactobacillus acidophilus*. Эти данные сопоставимы с сообщением об устойчивости к экспериментальной депрессии, развивающейся у мышей с гиперэкспрессией CB2-рецепторов [64].

Анксиолитический и антидепрессивный эффекты, опосредованные блуждающим нервом, были обнаружены у следующих бактерий: *L.rhamnosus*, *B. Longum* и др. Около 80% волокон в составе блуждающего нерва являются афферентными и отвечают за передачу информации о состоянии внутренних органов в ЦНС. Примечательно, что участие блуждающего нерва в патогенезе депрессии послужило основой для применения его электростимуляции как метода преодоления терапевтической резистентности у пациентов с депрессией. Предполагается, что стимуляция блуждающего нерва позволяет оказывать влияние на структуры лимбической системы и активировать обмен ацетилхолина и ГАМК. Также известно об участии блуждающего нерва в регуляции мозгового кровообращения [30, 65-67].

Противовоспалительное действие пробиотиков прерывает такой компонент патогенеза депрессии как воспаление. В 90-ых годах была предложена теория о преобладании иммунных механизмов в развитии депрессии, позднее дополненная исследованиями выраженности острофазового ответа у пациентов с депрессией. Было установлено, что у них повышен уровень провоспалительных цитокинов в сыворотке крови, причем тяжесть симптомов депрессии напрямую коррелировала с их количеством [3, 68]. Считается, что провоспалительные маркеры могут способствовать развитию депрессии, повышая активность гипоталамо-гипофизарно-адреналовой оси, нарушая метаболизм серотонина и вызывая нейровегетативную патологию [40, 51, 69]. Сообщалось и об эффективности лечения депрессии противовоспалительными средствами [68]. Данная теория также объясняет связь депрессии с сердечно-сосудистыми заболеваниями, более высокую частоту депрессивных эпизодов у женщин благодаря способности эстрогенов активировать макрофаги и низкую встречаемость депрессии среди населения Японии вследствие высокого содержания в рационе рыбы и морепродуктов, являющихся источником омега-3 полиненасыщенных жирных кислот [3]. Омега-3 ПНЖК, как

известно, обладают противовоспалительной активностью вследствие супрессивного действия на макрофаги, подавления фосфолипазы A2 и конкуренции с арахидоновой кислотой - предшественницей многих провоспалительных цитокинов - за циклооксигеназу [29]. Дополнительным подтверждением воспалительного компонента патогенеза депрессии является высокая вероятность ее развития у пациентов, получающих цитокиновую терапию [3]. Кроме того, известно, что стимуляция блуждающего нерва предотвращает дегрануляцию тучных клеток и стимулирует ацетилхолиновые рецепторы, уменьшая выработку провоспалительных цитокинов. Это явление, открытое в начале 21 века, было названо холинергическим противовоспалительным рефлексом и, возможно, является одной из причин эффективности электростимуляции блуждающего нерва в борьбе с резистентными депрессиями [3].

Стимуляция выработки BDNF является эффектом таких пробиотиков, как *B. Longum* и *L. reuteri*, что согласуется с нейротрофической теорией депрессии, согласно которой в ее основе лежит патофизиологический процесс, вызванный дефицитом BDNF [41, 48].

Способность ингибировать моноаминоксидазу (MAO) обнаружена у *Bifidobacterium animalis* 01. MAO – фермент, отвечающий за распад нейротрансмиттеров в синаптической щели. Торможение его активности приводит к поддержанию нейротрансмиттеров в синапсе в количестве, достаточном для улучшения настроения у пациентов с тревогой и депрессией [70].

Подавление колонизационной активности *C. jejuni* и других патогенных агентов, экспериментальное инфицирование которыми ведет к тревогоподобному изменению поведения грызунов в отсутствие признаков специфического воспаления и генерализованного иммунного ответа, является эффектом *L. acidophilus* и *L. plantarum* 423 [14, 25, 49, 71].

Способность восстанавливать защитную функцию кишечного барьера и предотвращать транслокацию нейротоксичных ЛПС была обнаружена у *L. farcinis*, что, как обсуждалось выше, имеет нейропротективное значение [1, 5, 58].

Восстановление метаболической функции микробиоты и абсорбции нутриентов, неполноценной в условиях нарушения микроэкологии кишечника, ведет к нормальному обеспечению организма хозяина необходимыми для адекватной работы нервной системы питательными ве-

ществами, витаминами и микроэлементами [21].

Антиоксидантные свойства пробиотиков позволяют рассматривать их в качестве корректора окислительного стресса, высокая распространенность которого была обнаружена у пациентов с депрессией и тревогой [40, 69].

Наиболее интригующим из недавно открытых свойств психобиотиков является их влияние на метаболизм таких нейротрансмиттеров как гамма-аминомасляная кислота (ГАМК), дофамин, адреналин, норадреналин, серотонин и мелатонин [16, 72]. Концепция нейрофизиологического гомеостаза предполагает наличие в организме четко сбалансированного качественного и количественного состава различных нейротрансмиттеров, который и определяет гармоничную работу часто противоборствующих друг другу нейрохимических систем мозга [17]. Изменение баланса нейротрансмиттеров бактериального происхождения в результате нарушения микроэкологии или применения пробиотиков могут приводить к закономерным изменениям психической сферы хозяина.

ГАМК синтезируется ГАМКергическими нейронами центральной нервной системы. Это тормозной медиатор, связывание которого со специфическими рецепторами приводит к остановке нервного импульса. Помимо функции ключевого тормозного медиатора, ГАМК имеет иммуномодулирующую и гипотензивную функцию, стимулирует синтез инсулина в поджелудочной железе. Дисбаланс ГАМКергической системы мозга играет важную роль в патогенезе тревоги и депрессии [41, 73]. Способность к синтезу ГАМК обнаружена у многих бактерий, выделенных из кишечника человека [74]. Найдены штаммы, способные продуцировать ГАМК в количествах, превышающих 100 г/л [74, 75]. Кроме того, у бактерий рода *L. rhamnosus* была обнаружена способность повышать экспрессию ГАМК-рецепторов в мозге, причем данный эффект не развивался у ваготомизированных мышей [55].

Катехоламины – дофамин, адреналин и норадреналин – синтезируются из L-тирозина в различных отделах мозга, надпочечниках, некоторых симпатических волокнах. В организме человека адреналин и норадреналин являются нейротрансмиттерами и гормонами, отвечающими за развитие стресс-реакции. Вместе с адренокортикотропным гормоном, кортикостероном и кортизолом, адреналин и норадреналин являются основными продуктами активации НРА-оси, дис-

функция которой сопровождается гиперактивностью симпатической нервной системы, что наблюдается у пациентов с депрессией и тревогой. Что касается дофамина, то известно несколько дофаминовых путей в нейротрансмиссии, один из которых является частью так называемой «системы внутреннего подкрепления», отвечающей за позитивное настроение как вознаграждение за достижение результата. Различные психологические награды увеличивают уровень дофамина в мозге, таким же образом действуют и некоторые психоактивные вещества [17].

Влияние адреналина и норадреналина на кишечную микробиоту заключается в усилении роста и вирулентности условно-патогенных бактерий, что, возможно, является одной из причин изменения кишечной микробной композиции у людей в стрессовых условиях. Подавляя выработку IgA, стимулируя перистальтику и выделение желчи, они способствуют увеличению популяции анаэробных бактерий *Bacteroides* и представителей патогенной микрофлоры [17]. Пробиотики, как оказалось, снижают активность НРА-оси, что приводит к нормализации концентрации стресс-гормонов у пациентов и их расслаблению [72].

90-95% серотонина синтезируется энтерохромаффинными клетками кишечника, и только 5-10% его образуется в серотонинергических нейронах центральной нервной системы. Предшественником серотонина является аминокислота триптофан, из нее же синтезируется важнейший эндогенный адаптоген – мелатонин, обладающий широким спектром положительных эффектов, включая регуляцию циркадных ритмов, что обусловило создание группы антидепрессантов с механизмом действия, основанном на мелатонинергическом агонизме [16, 23]. Серотонин, будучи нейротрансмиттером, вовлечен в регуляцию сна, аппетита, настроения, обучения, памяти, а также в работу пищеварительной, дыхательной и сердечно-сосудистой систем и системы гемостаза. Низкая активность серотонинергической системы головного мозга считается важнейшим нейробиологическим субстратом тревоги и депрессии и является мишенью для антидепрессантов с механизмом действия, основанном на селективном подавлении обратного захвата серотонина [17, 41].

Учитывая функции серотонина, интересно отметить, что в полосатом теле и гиппокампе GF-мышей обмен серотонина ускорен [41]. Существуют данные о том, что в основе антидепрессив-

ного и анксиолитического эффектов пробиотиков может лежать микробный синтез триптофана, поскольку было доказано, что у пациентов, страдающих депрессией, снижена секреция мелатонина и серотонина [16]. Хотя биогенные амины микробного происхождения слабо проникают через барьер слизистой оболочки внутренних органов, они, взаимодействуя с энтеральной нервной системой, могут передавать сигнальные вещества через блуждающий нерв и таким образом оказывать влияние на головной мозг [17]. Кроме того, у бактерий рода *Lactobacillus* была обнаружена способность модулировать деятельность 5-НТ-ергической системы мозга, в частности снижать скорость метаболизма серотонина [55]. Недавно стал известен и другой механизм влияния микроорганизмов на уровень серотонина. В декабре 2016 года были опубликованы результаты работы, проведенной группой исследователей из Университета Сарагосы, которые обнаружили, что активация TLR2 – рецептора, отвечающего за распознавание микробных компонентов, снижает активность и экспрессию серотонинового транспортера SERT [76].

Заключение

Несмотря на то, что начало изучению взаимоотношений между кишечником и головным мозгом, между микрофлорой и хозяином положено учеными, работавшими на рубеже XIX и XX веков, взгляд на микробиоту как на одну из основных детерминант здоровья, в том числе психического, получил развитие только сейчас. Анализируя научную литературу по данной теме, можно отметить некоторые особенности. Во-первых, обращает на себя внимание пока еще малое количество клинических испытаний психобиотиков, несмотря на относительно хорошую исследованность лекарственной группы эубиотиков. Во-вторых, можно выделить несколько исследовательских групп, ведущих работу по всестороннему изучению микробиом-кишечно-мозговой оси, причем среди них сравнительно мало представителей стран СНГ. В-третьих, тезису о возможности влиять на психическое состояние путем коррекции на уровне микробиоты противопоставлен полярный тезис, демонстрирующий скептицизм в отношении применения пробиотиков вообще и психобиотиков в частности.

Тем не менее, ВОЗ прогнозирует, что к 2020 году психические расстройства станут од-

ной из главных причин инвалидизации, причем второе место из десяти разделят депрессия и тревога, что обуславливает остроту проблемы трудностей их лечения (резистентность, комплайнс и побочные эффекты). Изучение процессов, происходящих на микробиом-кишечно-мозговой оси, открывает перспективы применения нового метода в комплексной терапии депрессивных и тревожных расстройств, имеющего патогенетическую направленность.

Литература

1. Рябиченко, Е. В. Кишечно-мозговые взаимоотношения в норме и патологии / Е. В. Рябиченко, В. М. Бондаренко // Верхневолж. мед. журн. – 2013. – Т. 11, № 1. – С. 34–39.
2. Mayer, E. A. Gut feelings: the emerging biology of gut-brain communication / E. A. Mayer // Nat. Rev. Neurosci. – 2011 Jul. – Vol. 12, N 8. – P. 453–466.
3. Бондаренко, В. М. Патогенетические механизмы и принципы терапии заболеваний, связанных с нарушением взаимосвязей кишечно-мозговой оси / В. М. Бондаренко, Е. В. Рябиченко / Бюл. Оренбург. науч. центра УрО РАН. – 2013. – № 4. – С. 1–15.
4. Ситкин, С. И. Филометаболическое ядро микробиоты кишечника / С. И. Ситкин, Е. И. Ткаченко, Т. Я. Вахитов // Альм. клин. медицины. – 2015. – № 40. – С. 12–34.
5. Связь между микробиотой ЖКТ и психическим здоровьем / А. Е. Козлов [и др.] // Бюл. мед. интернет-конф. – 2015. – Т. 5. – № 12. – С. 1692.
6. Structure, function and diversity of the healthy human microbiome / Human Microbiome Project Consortium // Nature. – 2012 Jun. – Vol. 486, N 7402. – P. 207–214.
7. Шульпекова, Ю. О. Кишечный микробиом как особый орган / Ю. О. Шульпекова // Рос. журн. гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. – 2014. – Т. 24. – № 6. – С. 82–88.
8. Алексеева, А. Е. Возможности и перспективы применения методов массивного параллельного секвенирования в диагностике и эпидемиологическом надзоре за инфекционными заболеваниями / А. Е. Алексеева, Н. Ф. Бруснигина // МедиАль. – 2014. – № 2. – С. 6–28.
9. The role of the intestinal microbiota in the development of atopic disorders / J. Penders [et al.] // Allergy. – 2007 Nov. – Vol. 62, N 11. – P. 1223–1236.
10. Effect of powdered fermented milk with *Lactobacillus helveticus* on subjects with high-normal blood pressure or mild hypertension / K. Aihara [et al.] // J. Am. Coll. Nutr. – 2005 Aug. – Vol. 24, N 4. – P. 257–265.
11. O'Hara, A. M. The gut flora as a forgotten organ / A. M. O'Hara, F. Shanahan // EMBO Rep. – 2006 Jul. – Vol. 7, N 7. – P. 688–693.
12. Dinan, T. G. Melancholic microbes: a link between gut microbiota and depression? / T. G. Dinan, J. F. Cryan // Neurogastroenterol Motil. – 2013 Sep. – Vol. 25, N 9. – P. 713–719.
13. Host-gut microbiota metabolic interactions / J. K. Nicholson [et al.] // Science. – 2012 Jun. – Vol. 336, N 6086. – P. 1262–1267.
14. A randomized, double-blind, placebo-controlled pilot study of a probiotic in emotional symptoms of chronic fatigue syndrome / A. V. Rao [et al.] // Gut. Pathog. – 2009 Mar. – Vol. 1, N 1. – P. 1–6.
15. A metagenome-wide association study of gut microbiota in type 2 diabetes / J. Qin [et al.] // Nature. – 2012. – Vol. 490. – P. 55–60.
16. Кишечная микробиота человека и нейродегенеративные заболевания / Б. А. Шендеров [и др.] // Поликлиника. – 2016. – № 1/1. – С. 7–13.
17. Олескин, А. В. Биополитический подход к реабилитологии: потенциальная роль микробной нейрoхимии / А. В. Олескин, Б. А. Шендеров // Вестн. восстановит. медицины. – 2013. – № 1. – С. 60–67.
18. Bercik, P. Microbes and the gut-brain axis / P. Bercik, S. M. Collins, E. F. Verdu // Neurogastroenterol Motil. – 2012 May. – Vol. 24, N 5. – P. 405–413.
19. Cryan, J. F. Mind-altering microorganisms: the impact of the gut microbiota on brain and behavior / J. F. Cryan, T. G. Dinan // Nat. Rev. Neurosci. – 2012 Oct. – Vol. 13, N 10. – P. 701–712.
20. Bifidobacteria exert strain-specific effects on stress-related behavior and physiology in BALB/c mice / H. M. Savignac [et al.] // Neurogastroenterol Motil. – 2014 Nov. – Vol. 26, N 11. – P. 1615–1627.
21. Beneficial Effects of Probiotics, Prebiotics, Synbiotics, and Psychobiotics in Inflammatory Bowel Disease / A. Wasilewski [et al.] // Inflamm. Bowel. Dis. – 2015 Jul. – Vol. 21, N 7. – P. 1674–1682.
22. Clinical trial: the effects of a trans-galactooligosaccharide prebiotic on faecal microbiota and symptoms in irritable bowel syndrome / D. B. Silk [et al.] // Alim. Pharmacol. Ther. – 2009 Mar. – Vol. 29, N 5. – P. 508–518.
23. Кирпиченко, А. А. Новейший антидепрессант агомелатин в лечении расстройств аффективного спектра / А. А. Кирпиченко // Психиатрия, психотерапия и клин. психология. – 2014. – № 2. – С. 87–91.
24. Benton, D. Impact of consuming a milk drink containing a probiotic on mood and cognition / D. Benton, C. Williams, A. Brown // Eur. J. Clin. Nutr. – 2007 Mar. – Vol. 61, N 3. – P. 355–361.
25. Chronic gastrointestinal inflammation induces anxiety-like behavior and alters central nervous system biochemistry in mice / P. Bercik [et al.] // Gastroenterology. – 2010 Dec. – Vol. 139, N 6. – P. 2102–2112.
26. Успенский, Ю. Патоморфоз тревожного расстройства у больных с дисбиозом кишечника / Ю. Успенский, Е. В. Балукова // Врач. – 2009. – № 8. – С. 33–37.
27. Gorbach, S. L. Probiotics in the third millennium / S. L. Gorbach // Dig. Liver Dis. – 2002 Sep. – Vol. 34, suppl. 2. – P. S2–7.
28. Гришель, А. И. Пробиотики и их роль в современной медицине / А. И. Гришель, Е. П. Кишкурно // Вестн. фармации. – 2009. – № 1. – С. 90–93.
29. Беляева, Л. Е. Способно ли регулярное потребление «функциональной пищи» замедлить скорость атерогенеза? / Л. Е. Беляева // Вестн. ВГМУ. – 2012. – Т. 11, № 3. – С. 15–27.
30. Dinan, T. G. Psychobiotics: a novel class of psychotropic / T. G. Dinan, C. Stanton, J. F. Cryan // Biol. Psychiatry. – 2013 Nov. – Vol. 74, N 10. – P. 720–726.
31. Метаболом сыворотки крови по данным газовой хроматографии-масс-спектрометрии (ГХ-МС) у паци-

- ентов с язвенным колитом и больных целиакией / С. И. Ситкин [и др.] // Эксперим. и клин. гастроэнтерология. – 2013. – № 12. – С. 44–57.
32. Ткач, С. М. Кишечная микробиота и печень: патофизиологические и клинические взаимодействия / С. М. Ткач, К. С. Пучков, Ю. Г. Кузнецов // Сучасна гастроентерология. – 2013. – № 6. – С. 92–99.
33. Кишечная микробиота: современные представления / Е. М. Булатова [и др.] // Педиатрия. – 2009. – Т. 87, № 3. – С. 104–110.
34. Пономарева, О. А. Роль нормальной микрофлоры в поддержании здоровья человека / О. А. Пономарева, Е. В. Симонова // Сибир. мед. журн. – 2008. – № 8. – С. 20–25.
35. Rook, G. A. 99th Dahlem conference on infection, inflammation and chronic inflammatory disorders: darwinian medicine and the 'hygiene' or 'old friends' hypothesis / G. A. Rook // Clin. Exp. Immunol. – 2010 Apr. – Vol. 160, N 1. – P. 70–79.
36. The Microbiota, Immunoregulation, and Mental Health: Implications for Public Health / C. A. Lowry [et al.] // Curr. Environ. Health Rep. – 2016 Sep. – Vol. 3, N 3. – P. 270–286.
37. Hooper, J. V. Interactions between the microbiota and the immune system / J. V. Hooper, D. R. Littman, A. J. Macpherson // Science. – 2012 Jun. – Vol. 336, N 6086. – P. 1268–1273.
38. Round, J. L. The gut microbiota shapes intestinal immune responses during health and disease / J. L. Round, S. K. Mazmanian // Nat. Rev. Immunol. – 2009 May. – Vol. 9, N 5. – P. 313–323.
39. Хавкин, А. И. Нарушения микроэкологии кишечника и энтеросорбция / А. И. Хавкин // Вопр. современ. педиатрии. – 2009. – Т. 8, № 2. – С. 94–98.
40. Logan, A. C. Major depressive disorder: probiotics may be an adjuvant therapy / A. C. Logan, M. Katzman // Med. Hypotheses. – 2005. – Vol. 64, N 3. – P. 533–538.
41. Foster, J. A. Gut-brain axis: how the microbiome influences anxiety and depression / J. A. Foster, K. A. McVey Neufeld // Trends Neurosci. – 2013 May. – Vol. 36, N 5. – P. 305–312.
42. Interactions between commensal bacteria and gut sensorimotor function in health and disease / G. Barbara [et al.] // Am. J. Gastroenterol. – 2005 Nov. – Vol. 100, N 11. – P. 2560–2568.
43. Collective unconscious: how gut microbes shape human behavior / T. G. Dinan [et al.] // J. Psychiatr. Res. – 2015 Apr. – Vol. 63. – P. 1–9.
44. Abrams, G. D. Effect of the normal microbial flora on gastrointestinal motility / G. D. Abrams, J. E. Bishop // Proc. Soc. Exp. Biol. Med. – 1967 Oct. – Vol. 126, N 1. – P. 301–304.
45. Bacterial infection causes stress-induced memory dysfunction in mice / M. G. Gareau [et al.] // Gut. – 2011 Mar. – Vol. 60, N 3. – C. 307–317.
46. Postnatal microbial colonization programs the hypothalamic–pituitary–adrenal system for stress response in mice / N. Sudo [et al.] // J. Physiol. – 2004 Jul. – Vol. 558, pt. 1. – P. 263–275.
47. The intestinal microbiota affect central levels of brain-derived neurotrophic factor and behavior in mice / P. Bercik [et al.] // Gastroenterology. – 2011 Aug. – Vol. 141, N 2. – P. 599–609.
48. Correlation between the human fecal microbiota and depression / A. Naseribafrouei [et al.] // Neurogastroenterol Motil. – 2014 Aug. – Vol. 26, N 8. – P. 1155–1162.
49. Goehler, L. F. Infection-induced viscerosensory signals from the gut enhance anxiety: implications for psychoneuroimmunology / L. F. Goehler, M. Lyte, R. P. Gaykema // Brain. Behav. Immun. – 2007 Aug. – Vol. 21, N 6. – P. 721–726.
50. The probiotic *Bifidobacterium infantis*: an assessment of potential antidepressant properties in the rat / L. Desbonnet [et al.] // J. Psychiatr. Res. – 2008 Dec. – Vol. 43, N 2. – P. 164–174.
51. Шилов, Ю. Е. Кинуренины в патогенезе эндогенных психических заболеваний / Ю. Е. Шилов, М. В. Безруков // Вестн. Рос. акад. мед. наук. – 2013. – Т. 68, № 1. – С. 35–41.
52. Effects of the probiotic *Bifidobacterium infantis* in the maternal separation model of depression / L. Desbonnet [et al.] // Neuroscience. – 2010 Nov. – Vol. 170, N 4. – P. 1179–1188.
53. The anxiolytic effect of *Bifidobacterium longum* NCC3001 involves vagal pathways for gut-brain communication / P. Bercik [et al.] // Neurogastroenterol Motil. – 2011 Dec. – Vol. 23, N 12. – P. 1132–1139.
54. Ingestion of *Lactobacillus* strain regulates emotional behavior and central GABA receptor expression in a mouse via the vagus nerve / J. A. Bravo [et al.] // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 2011 Sep. – Vol. 108, N 38. – P. 16050–16055.
55. Ingestion of *Lactobacillus* strain reduces anxiety and improves cognitive function in the hyperammonemia rat / J. Luo [et al.] // Sci. China. Life. Sci. – 2014 Mar. – Vol. 57, N 3. – P. 327–335.
56. Probiotics reduce psychological stress in patients before laryngeal cancer surgery / H. Yang [et al.] // Asia. Pac. J. Clin. Oncol. – 2016 Mar. – Vol. 12, N 1. – P. e92–96.
57. *Lactobacillus pentosus* var *plantarum* C29 ameliorates age-dependent memory impairment in Fischer 344 rats / J. J. Jeong [et al.] // Lett. Appl. Microbiol. – 2015 Apr. – Vol. 60, N 4. – P. 307–314.
58. Probiotic gut effect prevents the chronic psychological stress-induced brain activity abnormality in mice / A. Ait-Belgnaoui [et al.] // Neurogastroenterol Motil. – 2014 Apr. – Vol. 26, N 4. – P. 510–520.
59. Assessment of psychotropic-like properties of a probiotic formulation (*Lactobacillus helveticus* R0052 and *Bifidobacterium longum* R0175) in rats and human subjects / M. Messaoudi [et al.] // Br. J. Nutr. – 2011 Mar. – Vol. 105, N 5. – P. 755–764.
60. Consumption of fermented milk product with probiotic modulates brain activity / K. Tillisch [et al.] // Gastroenterology. – 2013 Jun. – Vol. 144, N 7. – P. 1394–1401.
61. Clinical and metabolic response to probiotic administration in patients with major depressive disorder: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial / G. Akkasheh [et al.] // Nutrition. – 2016 Mar. – Vol. 32, N 3. – P. 315–320.
62. A randomized controlled trial to test the effect of multispecies probiotics on cognitive reactivity to sad mood / L. Steenbergen [et al.] // Brain. Behav. Immun. – 2015 Aug. – Vol. 48. – C. 258–264.
63. Холмогорова, А. Б. Основные этапы и направления изучения когнитивных дисфункций при депрессиях [Электронный ресурс] / А. Б. Холмогорова, О. Д. Пуговкина // Мед. психология в России : электрон. науч. журн. – 2015. – № 6. – Режим доступа: <http://www.mprj.ru>.

- ru/archiv_global/2015_6_35/nomer02.php. – Дата доступа: 18.03.2017.
64. Lactobacillus acidophilus modulates intestinal pain and induces opioid and cannabinoid receptors / C. Rousseaux [et al.] // Nat. Med. – 2007 Jan. – Vol. 13, N 1. – P. 35–37.
 65. Корзнев, А. В. Преодоление резистентности депрессивных расстройств методами нейростимуляции / А. В. Корзнев, Е. Ю. Арбиталин // Бюл. СО РАМН. – 2010. – Т. 30, № 5. – С. 30–34.
 66. Psychoactive bacteria Lactobacillus rhamnosus (JB-1) elicits rapid frequency facilitation in vagal afferents / A. Perez-Burgos [et al.] // Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver. Physiol. – 2013 Jan. – Vol. 304, N 2. – P. G211–220.
 67. Brain blood flow change with acute vagus nerve stimulation in treatment refractory major depressive disorder / C. R. Conway [et al.] // Brain. Stimul. – 2012 Apr. – Vol. 5, N 2. – P. 163–171.
 68. Miller, A. H. The role of inflammation in depression: from evolutionary imperative to modern treatment target / A. H. Miller, C. L. Raison // Nat. Rev. Immunol. – 2016 Jan. – Vol. 16, N 1. – P. 22–34.
 69. Maes, M. An intriguing and hitherto unexplained co-occurrence: Depression and chronic fatigue syndrome are manifestations of shared inflammatory, oxidative and nitrosative (IO&NS) pathways / M. Maes // Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry. – 2011 Apr. – Vol. 35, N 3. – P. 784–794.
 70. Shen, Q. In vitro and In vivo antioxidant activity of Bifidobacterium animalis 01 isolated from centenarians / Q. Shen, N. Shang, P. Li // Curr. Microbiol. – 2011 Apr. – Vol. 62, N 4. – P. 1097–1103.
 71. Ramiah, K. Surface-bound proteins of Lactobacillus plantarum 423 that contribute to adhesion of Caco-2 cells and their role in competitive exclusion and displacement of Clostridium sporogenes and Enterococcus faecalis / K. Ramiah, C. A. van Reenen, L. M. Dicks // Res. Microbiol. – 2008 Jul-Aug. – Vol. 159, N 6. – P. 470–475.
 72. Bacterial neuroactive compounds produced by psychobiotics / R. Wall [et al.] // Adv. Exp. Med. Biol. – 2014. – Vol. 817. – P. 221–239.
 73. Kalueff, A. V. Role of GABA in anxiety and depression / A. V. Kalueff, D. J. Nutt // Depress. Anxiety. – 2007. – Vol. 24, N 7. – P. 495–517.
 74. Gamma-aminobutyric acid production by culturable bacteria from the human intestine / E. Barrett [et al.] // J. Appl. Microbiol. – 2012 Aug. – Vol. 113, N 2. – P. 411–417.
 75. Cho, Y. R. Production of gamma-aminobutyric acid (GABA) by Lactobacillus buchneri isolated from kimchi and its neuroprotective effect on neuronal cells / Y. R. Cho, J. Y. Chang, H. C. Chang // J. Microbiol. Biotechnol. – 2007 Jan. – Vol. 17, N 1. – P. 104–109.
 76. Intestinal serotonin transporter inhibition by Toll-like receptor 2 activation. A feedback modulation / E. Latorre [et al.] // PLoS ONE. – 2016. – Vol. 11, N 12. – P. e0169303.

Поступила 28.12.2016 г.

Принята в печать 04.04.2017 г.

References

1. Ryabichenko EV, Bondarenko VM. Intestinal-cerebral relationships in norm and pathology. Verkhnevolzh Med Zhurn. 2013;11(1):34-9. (In Russ.)
2. Mayer EA. Gut feelings: the emerging biology of gut-brain communication. Nat Rev Neurosci. 2011 Jul;12(8):453-66. doi: 10.1038/nrn3071.
3. Bondarenko VM, Ryabichenko EV. Pathogenetic mechanisms and principles of treatment of diseases associated with the violation of the relationships of the intestinal-brain axis. Biul Orenburg Nauch Tsentra UrO RAN. 2013;(4):1-15. (In Russ.)
4. Sitkin SI, Tkachenko EI, Vakhitov TYa. Philometroides - intestinal microbiota. Al'm Klin Meditsiny. 2015;(40):12-34. doi: 10.18786/2072-0505-2015-40-12-34. (In Russ.)
5. Kozlov AE, Kazantsev AV, Vyazovchenko VA, Sizov SV, Abrosimova YuS. The link between gastrointestinal microbiota and mental health. Biul Med Internet-konf. 2015;5(12):1692. (In Russ.)
6. Human Microbiome Project Consortium. Structure, function and diversity of the healthy human microbiome. Nature. 2012 Jun;486(7402):207-14. doi: 10.1038/nature11234.
7. Shul'pekova YuO. Intestinal microbiome as special organ. Ros Zhurn Gastroenterologii Gepatologii Koloproktologii. 2014;24(6):82-8. (In Russ.)
8. Alekseeva AE, Brusnigina NF. Opportunities and the prospects of use of methods of a massive parallel sekvenirovaniye in diagnostics and epidemiological surveillance behind infectious diseases. MediAl'. 2014;(2):6-28. (In Russ.)
9. Penders J, Stobberingh EE, van den Brandt PA, Thijs C. The role of the intestinal microbiota in the development of atopic disorders. Allergy. 2007 Nov;62(11):1223-36. doi: 10.1111/j.1398-9995.2007.01462.x
10. Aihara K, Kajimoto O, Hirata H, Takahashi R, Nakamura Y. Effect of powdered fermented milk with Lactobacillus helveticus on subjects with high-normal blood pressure or mild hypertension. J Am Coll Nutr. 2005 Aug;24(4):257-65.
11. O'Hara AM, Shanahan F. The gut flora as a forgotten organ. EMBO Rep. 2006 Jul;7(7):688-93. doi: 10.1038/sj.embor.7400731
12. Dinan TG, Cryan JF. Melancholic microbes: a link between gut microbiota and depression? Neurogastroenterol Motil. 2013 Sep;25(9):713-9. doi: 10.1111/nmo.12198
13. Nicholson JK, Holmes E, Kinross J, Burcelin R, Gibson G, Jia W, et al. Host-gut microbiota metabolic interactions. Science. 2012 Jun;336(6086):1262-7. doi: 10.1126/science.1223813
14. Rao AV, Bested AC, Beaulne TM, Katzman MA, Iorio C, Berardi JM, et al. A randomized, double-blind, placebo-controlled pilot study of a probiotic in emotional symptoms of chronic fatigue syndrome. Gut Pathog. 2009 Mar;1(1):6. doi: 10.1186/1757-4749-1-6.
15. Qin J, Li Y, Cai Z, Li S, Zhu J, Zhang F, et al. A metagenome-wide association study of gut microbiota in type 2 diabetes. Nature. 2012;490:55-60. doi:10.1038/nature11450

16. Shenderov BA, Golubev VL, Danilov AB, Prishchepa AV. Intestinal microbiota of the person and neurodegenerative diseases. *Poliklinika*. 2016;(1-1):7-13. (In Russ.)
17. Oleskin AV, Shenderov BA. Biopolitical approach to rehabilitology: potential role microbic neyrokhimiiya. *Vestn Vosstanovit Meditsiny*. 2013;(1):60-7. (In Russ.)
18. Bercik P, Collins SM, Verdu EF. Microbes and the gut-brain axis. *Neurogastroenterol Motil*. 2012 May;24(5):405-13. doi: 10.1111/j.1365-2982.2012.01906.x
19. Cryan JF, Dinan TG. Mind-altering microorganisms: the impact of the gut microbiota on brain and behavior. *Nat Rev Neurosci*. 2012 Oct;13(10):701-12. doi: 10.1038/nrn3346
20. Savignac HM, Kiely B, Dinan TG, Cryan JF. Bifidobacteria exert strain-specific effects on stress-related behavior and physiology in BALB/c mice. *Neurogastroenterol Motil*. 2014 Nov;26(11):1615-27. doi: 10.1111/nmo.12427
21. Wasilewski A, Zielińska M, Storr M, Fichna J. Beneficial Effects of Probiotics, Prebiotics, Synbiotics, and Psychobiotics in Inflammatory Bowel Disease. *Inflamm Bowel Dis*. 2015 Jul;21(7):1674-82. doi: 10.1097/MIB.0000000000000364
22. Silk DB, Davis A, Vulevic J, Tzortzis G, Gibson GR. Clinical trial: the effects of a trans-galactooligosaccharide prebiotic on faecal microbiota and symptoms in irritable bowel syndrome. *Aliment Pharmacol Ther*. 2009 Mar;29(5):508-18. doi: 10.1111/j.1365-2036.2008.03911.x
23. Kirpichenko AA. The latest antidepressant аромелатин in treatment of disorders of an affective range. *Psikhiatriia Psikhoterapiia Klin Psikhologiiia*. 2014;(2):87-91. (In Russ.)
24. Benton D, Williams C, Brown A. Impact of consuming a milk drink containing a probiotic on mood and cognition. *Eur J Clin Nutr*. 2007 Mar;61(3):355-61. doi: 10.1038/sj.ejcn.1602546
25. Bercik P, Verdu EF, Foster JA, Macri J, Potter M, Huang X, et al. Chronic gastrointestinal inflammation induces anxiety-like behavior and alters central nervous system biochemistry in mice. *Gastroenterology*. 2010 Dec;139(6):2102-2112. doi: 10.1053/j.gastro.2010.06.063
26. Uspenskiy Yu, Balukova EV. Pathomorphism of alarming disorder at patients with disbiozy an intestine. *Vrach*. 2009;(8):33-7. (In Russ.)
27. Gorbach SL. Probiotics in the third millennium. *Dig Liver Dis*. 2002 Sep;34 Suppl 2:S2-7.
28. Grishel' AI, Kishkurno EP. Probiotics and their role in modern medicine. *Vestn Farmatsii*. 2009;(1):90-3. (In Russ.)
29. Belyaeva LE. Whether regular consumption of «functional food» is capable to slow down the speed of an atrogenez? *Vestn VGMU*. 2012;11(3):15-27. (In Russ.)
30. Dinan TG, Stanton C, Cryan JF. Psychobiotics: a novel class of psychotropic. *Biol Psychiatry*. 2013 Nov;74(10):720-6. doi: 10.1016/j.biopsych.2013.05.001
31. Sitkin SI, Tkachenko EI, Vakhitov TYa, Oreshko LS, Zhigalova TN. Metabolome of blood serum according to gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) in patients with ulcerative colitis and celiacs. *Ekspirimi Klin Gastroenterologiiia*. 2013;(12):44-57. (In Russ.)
32. Tkach SM, Puchkov KS, Kuzenko YuG. Intestinal microbiota and the liver: pathophysiological and clinical interactions. *Suchasna Gastroenterologiiia*. 2013;(6):92-9. (In Russ.)
33. Bulatova EM, Bogdanova NM, Lobanova EA, Gabrusskaya TV. Intestinal microbiota: current knowledge. *Pediatricia*. 2009;87(3):104-10. (In Russ.)
34. Ponomareva OA, Simonova EV. The role of normal microflora in the maintenance of human health. *Sibir Med Zhurn*. 2008;(8):20-5. (In Russ.)
35. Rook GA. 99th Dahlem conference on infection, inflammation and chronic inflammatory disorders: darwinian medicine and the 'hygiene' or 'old friends' hypothesis. *Clin Exp Immunol*. 2010 Apr;160(1):70-9. doi: 10.1111/j.1365-2249.2010.04133.x
36. Lowry CA, Smith DG, Siebler PH, Schmidt D, Stamper CE, Hassell JE Jr, et al. The Microbiota, Immunoregulation, and Mental Health: Implications for Public Health. *Curr Environ Health Rep*. 2016 Sep;3(3):270-86. doi: 10.1007/s40572-016-0100-5
37. Hooper LV, Littman DR, Macpherson AJ. Interactions between the microbiota and the immune system. *Science*. 2012 Jun;336(6086):1268-73. doi: 10.1126/science.1223490
38. Round JL, Mazmanian SK. The gut microbiota shapes intestinal immune responses during health and disease. *Nat Rev Immunol*. 2009 May;9(5):313-23. doi: 10.1038/nri2515
39. Khavkin AI. Violations of the microecology of the intestine and enterosorption. *Vopr Sovremen Pediatirii*. 2009;8(2):94-8. (In Russ.)
40. Logan AC, Katzman M. Major depressive disorder: probiotics may be an adjuvant therapy. *Med Hypotheses*. 2005;64(3):533-8. DOI: 10.1016/j.mehy.2004.08.019
41. Foster JA, McVey Neufeld KA. Gut-brain axis: how the microbiome influences anxiety and depression. *Trends Neurosci*. 2013 May;36(5):305-12. doi: 10.1016/j.tins.2013.01.005
42. Barbara G, Stanghellini V, Brandi G, Cremon C, Di Nardo G, De Giorgio R, et al. Interactions between commensal bacteria and gut sensorimotor function in health and disease. *Am J Gastroenterol*. 2005 Nov;100(11):2560-8.
43. Dinan TG, Stilling RM, Stanton C, Cryan JF. Collective unconscious: how gut microbes shape human behavior. *J Psychiatr Res*. 2015 Apr;63:1-9. doi: 10.1016/j.jpsychires.2015.02.021
44. Abrams GD, Bishop JE. Effect of the normal microbial flora on gastrointestinal motility. *Proc Soc Exp Biol Med*. 1967 Oct;126(1):301-4.
45. Gareau MG, Wine E, Rodrigues DM, Cho JH, Whary MT, Philpott DJ, et al. Bacterial infection causes stress-induced memory dysfunction in mice. *Gut*. 2011 Mar;60(3):307-17. doi: 10.1136/gut.2009.202515
46. Sudo N, Chida Y, Aiba Y, Sonoda J, Oyama N, Yu XN, et al. Postnatal microbial colonization programs the hypothalamic-pituitary-adrenal system for stress response in mice. *J Physiol*. 2004 Jul;558(Pt 1):263-75. doi: 10.1113/jphysiol.2004.063388
47. Bercik P, Denou E, Collins J, Jackson W, Lu J, Jury J, et al. The intestinal microbiota affect central levels of brain-derived neurotrophic factor and behavior in mice. *Gastroenterology*. 2011 Aug;141(2):599-609. doi: 10.1053/j.gastro.2011.04.052
48. Naseribafrouei A, Hestad K, Avershina E, Sekelja M, Linlökken A, Wilson R, et al. Correlation between the human fecal microbiota and depression. *Neurogastroenterol Motil*. 2014 Aug;26(8):1155-62. doi: 10.1111/nmo.12378

49. Goehler LE, Lyte M, Gaykema RP. Infection-induced viscerosensory signals from the gut enhance anxiety: implications for psychoneuroimmunology. *Brain Behav Immun.* 2007 Aug;21(6):721-6. doi: 10.1016/j.bbi.2007.02.005
50. Desbonnet L, Garrett L, Clarke G, Bienenstock J, Dinan TG. The probiotic *Bidobacteria infantis*: an assessment of potential antidepressant properties in the rat. *J Psychiatr Res.* 2008 Dec;43(2):164-74. doi: 10.1016/j.jpsychires.2008.03.009
51. Shilov YuE, Bezrukov MV. Kynurenine in the pathogenesis of endogenous psychiatric diseases. *Vestn Ros Akad Med Nauk.* 2013;68(1):35-41. (In Russ.)
52. Desbonnet L, Garrett L, Clarke G, Kiely B, Cryan JF, Dinan TG. Effects of the probiotic *Bifidobacterium infantis* in the maternal separation model of depression. *Neuroscience.* 2010 Nov;170(4):1179-88. doi: 10.1016/j.neuroscience.2010.08.005
53. Bercik P, Park AJ, Sinclair D, Khoshdel A, Lu J, Huang X, et al. The anxiolytic effect of *Bifidobacterium longum* NCC3001 involves vagal pathways for gut-brain communication. *Neurogastroenterol Motil.* 2011 Dec;23(12):1132-9. doi: 10.1111/j.1365-2982.2011.01796.x
54. Bravo J, Forsythe P, Chew MV, Escaravage E, Savignac HM, Dinan T, et al. Ingestion of *Lactobacillus* strain regulates emotional behavior and central GABA receptor expression in a mouse via the vagus nerve. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2011 Sep; 108(38): 16050–16055. doi: 10.1073/pnas.1102999108
55. Luo J, Wang T, Liang S, Hu X, Li W, Jin F. Ingestion of *Lactobacillus* strain reduces anxiety and improves cognitive function in the hyperammonemia rat. *Sci China Life Sci.* 2014 Mar;57(3):327-35. doi: 10.1007/s11427-014-4615-4
56. Yang H, Zhao X, Tang S, Huang H, Zhao X, Ning Z, et al. Probiotics reduce psychological stress in patients before laryngeal cancer surgery. *Asia Pac J Clin Oncol.* 2016 Mar;12(1):e92-6. doi: 10.1111/ajco.12120
57. Jeong JJ, Woo JY, Kim KA, Han MJ, Kim DH. *Lactobacillus pentosus* var *plantarum* C29 ameliorates age-dependent memory impairment in Fischer 344 rats. *Lett Appl Microbiol.* 2015 Apr;60(4):307-14. doi: 10.1111/lam.12393
58. Ait-Belgnaoui A, Colom A, Braniste V, Ramalho L, Marrot A, Cartier C, et al. Probiotic gut effect prevents the chronic psychological stress-induced brain activity abnormality in mice. *Neurogastroenterol Motil.* 2014 Apr;26(4):510-20. doi: 10.1111/nmo.12295
59. Messaoudi M, Lalonde R, Violle N, Javelot H, Desor D, Nejdi A, et al. Assessment of psychotropic-like properties of a probiotic formulation (*Lactobacillus helveticus* R0052 and *Bifidobacterium longum* R0175) in rats and human subjects. *Br J Nutr.* 2011 Mar;105(5):755-64. doi: 10.1017/S0007114510004319
60. Tillisch K, Labus J, Kilpatrick L, Jiang Z, Stains J, Ebrat B, et al. Consumption of fermented milk product with probiotic modulates brain activity. *Gastroenterology.* 2013 Jun;144(7):1394-401. doi: 10.1053/j.gastro.2013.02.043
61. Akkasheh G, Kashani-Poor Z, Tajabadi-Ebrahimi M, Jafari P, Akbari H, Taghizadeh M, et al. Clinical and metabolic response to probiotic administration in patients with major depressive disorder: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Nutrition.* 2016 Mar;32(3):315-20. doi: 10.1016/j.nut.2015.09.003
62. Steenbergen L, Sellaro R, van Hemert S, Bosch JA, Colzato LS. A randomized controlled trial to test the effect of multispecies probiotics on cognitive reactivity to sad mood. *Brain Behav Immun.* 2015 Aug;48:258-64. doi: 10.1016/j.bbi.2015.04.003
63. Kholmogorova AB, Pugovkina OD. The main stages and tendencies in the study of cognitive dysfunction in depression [Elektronnyi resurs]. *Med Psikhologiya Rossii: elektron nauch zhurn.* 2015;(6). Rezhim dostupa: http://www.mprj.ru/archiv_global/2015_6_35/nomer02.php. Data dostupa: 18.03.2017. (In Russ.)
64. Rousseaux C, Thuru X, Gelot A, Barnich N, Neut C, Dubuquoy L, et al. *Lactobacillus acidophilus* modulates intestinal pain and induces opioid and cannabinoid receptors. *Nat Med.* 2007 Jan;13(1):35-7. doi: 10.1038/nm1521
65. Korzenev AV, Arbitalin EYu. Overcoming resistance of depressive disorders of methods of a neuroelectrical stimulation. *Biul SO RAMN.* 2010;30(5):30-4. (In Russ.)
66. Perez-Burgos A, Wang B, Mao YK, Mistry B, McVey Neufeld KA, Bienenstock J, et al. Psychoactive bacteria *Lactobacillus rhamnosus* (JB-1) elicits rapid frequency facilitation in vagal afferents. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2013 Jan;304(2):G211-20. doi: 10.1152/ajpgi.00128.2012
67. Conway CR, Sheline Y, Chibnall JT, Bucholz RD, Price JL, Gangwani S, M. Brain blood flow change with acute vagus nerve stimulation in treatment refractory major depressive disorder. *Brain Stimul.* 2012 Apr;5(2):163-71. doi: 10.1016/j.brs.2011.03.001
68. Miller AH, Raison CL. The role of inflammation in depression: from evolutionary imperative to modern treatment target. *Nat Rev Immunol.* 2016 Jan;16(1):22-34. doi: 10.1038/nri.2015.5
69. Maes M. An intriguing and hitherto unexplained co-occurrence: Depression and chronic fatigue syndrome are manifestations of shared inflammatory, oxidative and nitrosative (IO&NS) pathways. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.* 2011 Apr;35(3):784-94. doi: 10.1016/j.pnpbp.2010.06.023
70. Shen Q, Shang N, Li P. In vitro and In vivo antioxidant activity of *Bifidobacterium animalis* 01 isolated from centenarians. *Curr Microbiol.* 2011 Apr;62(4):1097-103. doi: 10.1007/s00284-010-9827-7
71. Ramiah K, van Reenen CA, Dicks LM. Surface-bound proteins of *Lactobacillus plantarum* 423 that contribute to adhesion of Caco-2 cells and their role in competitive exclusion and displacement of *Clostridium sporogenes* and *Enterococcus faecalis*. *Res Microbiol.* 2008 Jul-Aug;159(6):470-5. doi: 10.1016/j.resmic.2008.06.002
72. Wall R, Cryan JF, Ross RP, Fitzgerald GF, Dinan TG, Stanton C. Bacterial neuroactive compounds produced by psychobiotics. *Adv Exp Med Biol.* 2014;817:221-39. doi: 10.1007/978-1-4939-0897-4_10
73. Kalueff AV, Nutt DJ. Role of GABA in anxiety and depression. *Depress Anxiety.* 2007;24(7):495-517. doi: 10.1002/da.20262
74. Barrett E, Ross RP, O'Toole PW, Fitzgerald GF, Stanton C. Gamma-aminobutyric acid production by culturable bacteria from the human intestine. *J Appl Microbiol.* 2012 Aug;113(2):411-7. doi: 10.1111/j.1365-2672.2012.05344.x

75. Cho YR, Chang JY, Chang HC. Production of gamma-aminobutyric acid (GABA) by *Lactobacillus buchneri* isolated from kimchi and its neuroprotective effect on neuronal cells. *J Microbiol Biotechnol*. 2007 Jan;17(1):104-9.
76. Latorre E, Layunta E, Grasa L, Castro M, Pardo J, Gomollón F, et al. Intestinal serotonin transporter inhibition by Toll-like receptor 2 activation. A feedback modulation. *PLoS One*. 2016; 11(12):e0169303. doi: 10.1371/journal.pone.0169303

Submitted 28.12.2016

Accepted 04.04.2017

Сведения об авторах:

Кирпиченко А.А. – д.м.н., доцент, заведующий кафедрой психиатрии и наркологии, Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет;

Ким И.Ю. – магистрант кафедры психиатрии и наркологии, Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет.

Information about authors:

Kirpichenka A.A. – Doctor of Medical Sciences, associate professor, head of the Chair of Psychiatry & Narcology, Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University;

Kim I.Y. – MSc (Medicine) student of the Chair of Psychiatry & Narcology, Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University.

Адрес для корреспонденции: Республика Беларусь, 210023, г. Витебск, пр. Фрунзе, 27, Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет, кафедра психиатрии и наркологии. E-mail: kirpi@tut.by – Кирпиченко Андрей Александрович.

Correspondence address: Republic of Belarus, 210023, Vitebsk, 27 Frunze ave., Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University, Chair of Psychiatry & Narcology. E-mail: kirpi@tut.by – Andrey A. Kirpichenka.

МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА АГРЕГИРОВАННЫХ ЛИМФОИДНЫХ УЗЕЛКОВ ТОНКОЙ КИШКИ ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ НЕКОТОРЫХ ФАКТОРОВ КОСМИЧЕСКОГО ПОЛЕТА

КВАРАЦХЕЛИЯ А.Г.¹, ВАСЯНИНА К.А.², КЛОЧКОВА С.В.², АТЯКШИН Д.А.¹,
АЛЕКСЕЕВА Н.Т.¹, НИКИТЮК Д.Б.³, УСОВИЧ А.К.⁴

¹Воронежский государственный университет им. Н.Н. Бурденко, г. Воронеж, Россия

²Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова, г. Москва, Россия

³Федеральный исследовательский центр питания, биотехнологии и безопасности пищи, г. Москва, Россия

⁴Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет, г. Витебск, Республика Беларусь

Вестник ВГМУ. – 2017. – Том 16, №2. – С. 43-50.

MORPHOLOGICAL CHARACTERISTIC OF THE AGGREGATED LYMPHOID NODULES OF THE SMALL INTESTINE IN THE SIMULATION OF SOME FACTORS OF SPACE FLIGHT

KVARATSKHELIYA A.G.¹, VASYANINA K.A.², KLOCHKOVA S.V.², ATYAKSHIN D.A.¹,
ALEXEEVA N.T.¹, NIKITYUK D.B.³, USOVICH A.K.⁴

¹Voronezh State Medical University Named after N. N. Burdenko, Voronezh, Russia

²The First Moscow State Medical University Named after I.M. Sechenov, Moscow, Russia

³The Federal Research Centre of Nutrition, Biotechnology and Food Safety, Moscow, Russia

⁴Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University, Vitebsk, Republic of Belarus

Vestnik VGMU. 2017;16(2):43-50.

Резюме.

Цель – изучение структурной организации и морфологических особенностей агрегированных лимфоидных узелков тонкой кишки у мышей при моделировании сочетанного действия некоторых факторов космического полета, а также в разные сроки после окончания этих воздействий.

Материал и методы. Объект исследования – агрегированные лимфоидные узелки подвздошной кишки мышей-самцов линии F1(СВАхС57ВL6), массой 20-23 г. Проведено моделирование длительного комбинированного воздействия γ -излучения и смеси химических веществ. После окончания воздействий периферические иммунные образования изучали на протяжении восстановительного периода в сроки 14, 28, 60 и 90 суток. Продольные гистологические срезы после визуального определения расположения лимфоидной бляшки подвздошной кишки окрашивали гематоксилином-эозином, по ван Гизону, по Вейгерту, по Мэллори. Путем визуальной микроскопии и морфометрии определяли количество и размерные показатели агрегированных лимфоидных узелков. Определение площади, длины, ширины лимфоидных образований производили на цифровых микрофотографиях. Определяли среднее арифметическое площади лимфоидных структур, его ошибку. Достоверность полученных результатов оценивалась с помощью t критерия Стьюдента.

Результаты. Изменения клеточного состава лимфоидной ткани пейеровых бляшек в результате последовательного радиационно-химического воздействия проявляются полным исчезновением типичных межклеточных ассоциаций, лимфобластов, клеток с картиной митоза, уменьшением содержания лимфоцитов. Наблюдается увеличение процентного содержания дегенеративно измененных клеток. После окончания последовательного радиационного (в течение 63 суток, суммарная доза 350 сГр) и химического (пары ацетона, ацетальдегида, этанола) воздействия тенденция к восстановлению структуры агрегированных лимфоидных узелков наблюдается лишь на 90-е сутки после окончания эксперимента, когда размеры и количество лимфоидных узелков в их составе, абсолютное количество клеток лимфоидного ряда и клеточный состав лимфоидной ткани приближается к контролю.

Заключение. Установлено, что агрегированные лимфоидные узелки подвздошной кишки характеризуются высокой чувствительностью к последовательному действию радиационно-химического фактора, что проявляется в уменьшении абсолютного количества клеток лимфоидного ряда, полным исчезновением типичных межклеточных ассоциаций, лимфобластов, клеток с картиной митоза, уменьшением содержания лимфоцитов. На 90-е сутки после окончания воздействия радиационно-химического фактора наблюдается тенденция к восстановлению структуры агрегированных лимфоидных узелков, когда размеры и количество лимфоидных узелков в их составе, абсолютное количество клеток лимфоидного ряда и клеточный состав лимфоидной ткани приближается к контролю. Однако, полного восстановления лимфоидных бляшек в эти сроки не наблюдается.

Ключевые слова: лимфоидные органы, лимфоидные узелки тонкой кишки, факторы космического полета, химическое воздействие.

Abstract.

Objectives. To study the structural organization and morphological features of the aggregated lymphoid nodules of the small intestine in mice in case of the modelling of the combined action of several factors of space flight, as well as at different times after the end of these impacts.

Material and methods. The object of research was the aggregated lymphoid nodules of the ileum of male mice of the line F1 (CBAxС57BL6), their mass made up 20-23 g. The modelling of long-term combined effects of gamma-radiation and chemical substances mixture was performed. After the end of the impact, the peripheral immune structures were studied during the recovery period on the 14th, the 28th, the 60th and the 90th day. After the visual determination of the location of the lymphoid plaque of the ileum, longitudinal histological sections were stained with hematoxylin-eosin as well as according to the methods of Van Gizon, Weigert and Mallory. By means of visual microscopy and morphometry the number and size parameters of aggregated lymphoid nodules were determined. The determination of the area, length, and width of lymphoid formations was performed on digital micrographs. The arithmetical mean of the lymphoid structures area and its error were determined. The reliability of the obtained results was assessed using Student's t-test.

Results. Changes in the cellular composition of lymphoid tissue in the Peyer's patches as a result of successive radiation and chemical impacts manifested themselves in the complete disappearance of the typical intercellular associations, lymphoblasts, mitotic cells and the reduction of lymphocytes count. The increase in the percentage of degenerative changes in the cells was observed. After the end of the successive radiative (during 63 days, the total dose 350 cGy) and chemical (vapors of acetone, acetaldehyde, ethanol) impacts, the tendency to restore the structure of the group of lymphoid nodules was noticed only on the 90th day after the completion of the experiment, when the size and number of lymphoid nodules in their composition, the absolute number of cells of the lymphoid series and cellular composition of lymphoid tissue approximated to the control group.

Conclusions. It has been established that the aggregated lymphoid nodules of the ileum are characterized by high sensitivity to the sequential action of the radiation-chemical factor, which manifests itself in a decrease of the absolute number of cells of the lymphoid series, complete disappearance of typical intercellular associations, lymphoblasts, cells with mitosis, a decrease in the lymphocyte count. On the 90th day after the end of exposure to radiation and chemical factors there is a tendency to restore the structure of the aggregated lymphoid nodules, when the size and number of lymphoid nodules in their composition, the absolute number of cells of the lymphoid series and the cellular composition of the lymphoid tissue approximate to the control. However, the complete recovery of lymphoid plaques in these terms is not observed.

Key words: lymphoid organs, lymphoid nodules of the small intestine, space flight factors, chemical exposure.

Одним из проявлений научно-технического прогресса является проникновение человека в космос и верхние слои атмосферы [1-4]. При длительных полетах в космических аппаратах космонавты находятся в условиях комбинированного воздействия ряда факторов, главными из которых признаются сочетанное действие низкоинтенсивной радиации и воздействие смеси различных газов (ацетальдегид, ацетон, этанол) [5-7].

Следует отметить, что морфологические изменения разных органов и систем в условиях космических факторов находились и ранее в

сфере научных интересов отечественных морфологов. Так, основоположник отечественной космической анатомии М.Г. Привес [8] еще в 1975 году возглавил масштабные исследования по анализу структурно-функциональных особенностей различных органов и систем в условиях факторов космического полета (невесомость, гипергравитация и др.), выполненные в эксперименте у крыс, экспонируемых на биоспутнике «Космос-782» и других летательных аппаратах. При накоплении значительного фактического материала следует признать минимальными дан-

ные об изменении органов системы иммунитета в результате воздействия комплекса космических факторов. При этом доказана высокая структурная динамичность и лабильность всех участвующих в поддержании иммунитета образований, позволяющая рассматривать их как биологические маркеры, отражающие их результативность и эффективность при любых внешних влияниях [9-12]. Одним из ярких примеров активного и избирательного взаимодействия с внешней средой является работа тонкой кишки. Учитывая длительный контакт с питательными веществами, которые являются по химической природе чужеродными для организма, в ее стенке сформировалось скопление лимфоидной ткани в виде агрегированных лимфоидных узелков [13, 14].

Целью исследования явилось изучение структурной организации и морфологических особенностей агрегированных лимфоидных узелков тонкой кишки у мышей при моделировании сочетанного действия некоторых факторов космического полета, а также в разные сроки после окончания этих воздействий.

Материал и методы

Объектом исследования являлись агрегированные лимфоидные узелки подвздошной кишки мышей-самцов линии F1(CBAxС57BL6) в возрасте 30-35 дней и массой 20-23 г, подвергнутых экспериментальным воздействиям. Проведено моделирование длительного комбинированного воздействия γ -излучения и смеси химических веществ (223-суточный эксперимент) в соответствии с методикой, принятой в Институте медико-биологических проблем РАН [15]. Исследования проводили на испытательном стенде для санитарно-химических и токсикологических исследований (УМБИ-1) Государственного научного центра «Институт медико-биологических проблем» РАН в соответствии с требованиями Женевской конвенции «International Guiding Principles for Biomedical Involving Animals (Geneva, 1990)». Экспериментальный стенд рассчитан на длительное пребывание животных и оснащен автономными системами жизнеобеспечения. План проведения экспериментального исследования одобрен на заседании локального этического комитета ФГБОУ ВО «Воронежский государственный медицинский университет им. Н.Н. Бурденко» Минздрава России. При моделировании длительных воздействий мыши на-

ходились в гермокамерах с рабочим объемом 12 м³. Концентрацию кислорода, углекислого газа, температуру и относительную влажность воздуха контролировали круглосуточно. Температура воздуха в гермокамере находилась в пределах 24±2°C, относительная влажность – 65±3%, кислород – 21±2%, углекислота – 0,05-0,2%, аммиак – 0,05-2,2 мг/м³. Длительное комбинированное воздействие радиационного и химического факторов осуществляли последовательно. Сначала мышей подвергали 63-суточному облучению (суммарной дозой 350 сГр), а затем 70-суточному химическому воздействию парами ацетона, ацетальдегида и этанола в концентрациях, предельно допустимых для пилотируемых космических полетов. Эксперимент проводили на 75 мышах: 25 мышей умерщвляли после окончания экспериментального воздействия радиации с последующим действием химических смесей; 40 мышей – в разные сроки восстановительного периода; 10 мышей – контрольная группа. После окончания воздействий периферические лимфоидные образования изучали на протяжении восстановительного периода в сроки 14, 28, 60 и 90 суток (по 10 мышей в каждой группе). Продольные гистологические срезы после визуального определения расположения лимфоидной бляшки подвздошной кишки окрашивали гематоксилином-эозином, по ван Гизону, по Вейгерту, по Мэллори. Количество и размеры агрегированных лимфоидных узелков определяли путем визуальной микроскопии и морфометрии с использованием тринокулярного микроскопа AmScore. Определение площади, длины и ширины лимфоидных образований производили на цифровых микрофотографиях, полученных на телеметрической установке, состоящей из светового микроскопа, персонального компьютера и видеокамеры. На микрофотографиях агрегированные лимфоидные узелки выделяли в программе Adobe PhotoShop CS5, пользуясь опцией «магнитное лассо», позволяющей проводить выделение фигур произвольной формы.

Определяли среднее арифметическое площади лимфоидных структур, его ошибку. Достоверность полученных результатов оценивали с помощью *t* критерия Стьюдента [16].

Результаты и обсуждение

Показано, что в норме у мышей агрегированные лимфоидные узелки в количестве 4-7 располагаются на протяжении всей тонкой киш-

ки, преимущественно (70-75%) в конечной части подвздошной кишки, соответственно ее противобрыжечному краю, в собственной пластинке слизистой оболочки и подслизистой основе. Установлено, что все размерные структурные показатели групповых лимфоидных узелков у мышей отличаются значительной индивидуальной изменчивостью. Лимфоидная ткань этих образований качественно однотипна, образована преимущественно лимфоцитами (70-75% всех клеток лимфоидного ряда), ретикулярными клетками (13-16%), макрофагами, плазмócитами, митотически делящимися клетками, дегенеративно измененными клетками. В лимфоидной ткани всегда определяются типичные межклеточные ассоциации: расположение лимфоцитов послойное, макрофагально-лимфоцитарные, ретикулярно-лимфоцитарные и плазмócитарно-лимфоцитарные комплексы (макрофаг, ретикулярная клетка, плазмócит в окружении лимфоцитов).

Нами установлено, что агрегированные лимфоидные узелки кишки характеризуются высокой чувствительностью к последовательному действию радиационно-химического фактора. Эти изменения определяются сразу же после

окончания эксперимента. Они проявляются частичной десквамацией покровного эпителия бляшек, уменьшением количества, размеров и площади как самих групповых лимфоидных узелков (в 1,24-2,51 раза, $p<0,05$, табл. 1), так и составляющих их компонентов – одиночных лимфоидных узелков и их герминативных центров в 1,09-1,67 раза ($p<0,05$) (табл. 2).

В результате последовательного радиационно-химического воздействия уменьшается абсолютное количество клеток лимфоидного ряда (их число на площади 880 мкм² среза агрегированного лимфоидного узелка) (табл. 3).

По нашим данным, этот показатель в диффузной лимфоидной ткани пейеровой бляшки составляет $18,2\pm0,86$ клеток, что в 1,65 раза меньше контроля ($p<0,05$), в лимфоидных узелках без центра размножения – $25,2\pm0,76$ клеток, что в 1,36 раза меньше контроля ($p<0,05$), в центрах размножения лимфоидных узелков – $19,0\pm0,43$ клетки, что в 1,33 раза меньше контроля ($p<0,05$), в мантии лимфоидного узелка с центром размножения – $28,0\pm0,65$, что в 1,30 раза меньше контроля ($p<0,05$).

Изменения клеточного состава лимфоид-

Таблица 1 – Структурные показатели агрегированных лимфоидных узелков в стенке тонкой кишки мышей после последовательных радиационного и химического воздействий ($X\pm Sx$; min-max)

Группа наблюдения	Наименование, значение и размерность показателя				
	Длина агрегированного лимфоидного узелка (мкм)	Ширина агрегированного лимфоидного узелка (мкм)	Площадь агрегированного лимфоидного узелка на срезе (мм ² ×10 ⁻⁴)	Количество лимфоидных узелков в составе бляшки на продольном срезе кишки)	Число лимфоидных узелков с центром размножения (%)
Эксперимент	$870,0\pm15,61$ 750,7–1056,2	$515,2\pm7,38$ 434,5–579,2	$432,1\pm10,45$ 325,6–534,2	$5,3\pm0,20$ 4–8	$22,5\pm1,02$ 10,0–30,0
Контроль	$1205,3\pm8,85$ 1157,0–1239,0	$640,4\pm4,02$ 623,2–660,1	$541,2\pm3,88$ 526,1–561,2	$7,8\pm0,32$ 6–9	$56,6\pm1,62$ 47,0–62,1

Таблица 2 – Размерные показатели одиночных лимфоидных узелков с центром размножения в составе пейеровой бляшки на продольном срезе тонкой кишки мышей после последовательных радиационного и химического воздействий ($X\pm Sx$; min-max)

Группа наблюдений	Наименование, значение и размерность показателя		
	Длина лимфоидного узелка (мкм)	Ширина лимфоидного узелка (мкм)	Площадь лимфоидного узелка на продольном срезе (мм ² ×10 ⁻⁴)
Эксперимент	$58,2\pm0,75$ 50,1–64,7	$45,4\pm1,02$ 38,8–58,3	$48,7\pm0,84$ 39,7–56,2
Контроль	$85,4\pm1,93$ 76,6–94,5	$76,2\pm2,28$ 67,0–86,2	$53,3\pm0,89$ 48,3–56,6

Таблица 3 – Количество клеток лимфоидного ряда в различных компонентах пейеровой бляшки на продольном срезе тонкой кишки мышей после последовательных радиационного и химического воздействий малой интенсивности ($X \pm Sx$; min–max; на площади 880 мкм²)

Группа наблюдений	Форма лимфоидной ткани			
	Диффузная лимфоидная ткань	Лимфоидный узелок без центра размножения	Центр размножения лимфоидного узелка	Мантия лимфоидного узелка с центром размножения
Эксперимент	18,2±0,86 15–23	25,2±0,76 20–27	19,0±0,43 17–21	28,0±0,65 25–31
Контроль	30,0±0,54 28–33	34,2±0,54 32–37	25,2±0,43 24–28	36,3±0,43 34–38

Таблица 4 – Клеточный состав разных компонентов лимфоидной ткани пейеровой бляшки на продольном срезе тонкой кишки мышей после последовательных радиационного и химического воздействия ($X \pm Sx$; min–max, в %)

Типы клеток лимфоидного ряда	Группа наблюдения	Форма лимфоидной ткани			
		Диффузная лимфоидная ткань	Лимфоидный узелок без центра размножения	Центр размножения	Мантия лимфоидного узелка с центром размножения
лимфоциты	эксперимент	68,8±0,20 66–70	69,4±0,20 67–72	65,0±0,25 62–67	67,8±0,20 65–69
	контроль	76,4±0,54 73–78	74,3±0,65 71–77	69,4±0,20 68–72	74,1±0,54 69–74
лимфобласты	эксперимент	нет	нет	0,5±0,05 0–1	нет
	контроль	1,1±0,32 0–3	1,3±0,22 0–2	4,2±0,22 3–5	2,4±0,22 1–3
ретикулярные клетки	эксперимент	16,2±0,20 12–18	16,7±0,20 12–18	16,9±0,20 13–19	16,6±0,15 14–17
	контроль	14,5±0,54 12–17	15,4±0,64 12–18	14,8±0,32 13–16	13,9±0,32 12–15
плазмоциты	эксперимент	1,3±0,15 0–3	1,9±0,26 0–5	2,5±0,15 0–3	2,2±0,15 1–4
	контроль	1,8±0,22 1–3	2,4±0,22 1–3	2,2±0,22 1–3	2,2±0,22 1–3
макрофаги	эксперимент	4,0±0,20 2–6	3,9±0,15 2–5	4,8±0,15 2–5	4,3±0,15 2–5
	контроль	2,5±0,32 1–4	2,7±0,22 1–3	3,0±0,22 2–4	3,0±0,22 2–4
митотически делящиеся клетки	эксперимент	нет	нет	0,5±0,05 0–1	нет
	контроль	1,0±0,22 0–2	1,3±0,22 0–2	4,3±0,22 3–5	2,3±0,22 1–3
дегенеративные клетки	эксперимент	8,2±0,15 7–10	6,7±0,15 5–8	8,2±0,15 5–8	7,6±0,15 5–8
	контроль	2,1±0,22 1–3	2,7±0,32 1–4	2,1±0,22 1–3	2,2±0,22 1–3
эозинофилы	эксперимент	1,5±0,05 1–2	1,4±0,20 0–5	1,6±0,15 0–3	1,5±0,15 0–3
	контроль	0,6±0,11 0–1	нет	нет	нет

Примечание: за 100% принято общее количество клеток лимфоидного ряда на препарате.

ной ткани пейеровых бляшек в результате последовательного радиационно-химического воздействия проявляются полным исчезновением типичных межклеточных ассоциаций (макрофагально-лимфоцитарные комплексы и др.), лимфобластов, клеток с картиной митоза, уменьшением содержания лимфоцитов. Их количество составляет от $65,0 \pm 0,25\%$ в центрах размножения лимфоидных узелков (контроль – $69,4 \pm 0,20\%$) до $69,4 \pm 0,20\%$ в лимфоидных узелках без центра размножения (контроль – $74,3 \pm 0,65\%$) (табл. 4).

Наблюдается увеличение процентного содержания дегенеративно измененных клеток, количество которых варьирует в пейеровых бляшках у мышей экспериментальной группы от $6,7 \pm 0,15\%$ в лимфоидных узелках без центра размножения (контроль – $2,7 \pm 0,32\%$) до $8,2 \pm 0,15\%$ – в диффузной лимфоидной ткани (контроль – $2,1 \pm 0,22\%$). В диффузной лимфоидной ткани и всех компонентах лимфоидных узелков у мышей экспериментальной группы имеются эозинофилы ($1,4-1,6\%$), отсутствующие в контрольной группе, что может свидетельствовать о наличии аллергической реакции в результате проведенного эксперимента.

После окончания последовательного радиационного (в течение 63 суток, суммарная доза 350 сГр) и химического (пары ацетона, ацетальдегида, этанола) воздействия, тенденция к восстановлению структуры агрегированных лимфоидных узелков наблюдается лишь на 90-е сутки после окончания эксперимента, когда размеры и количество лимфоидных узелков в их составе, абсолютное количество клеток лимфоидного ряда и клеточный состав лимфоидной ткани приближаются к контролю. Полного восстановления лимфоидных бляшек в эти сроки не наблюдается: типичные межклеточные ассоциации в виде макрофагально-лимфоцитарных, плазмоцитарно-лимфоцитарных комплексов определяются лишь в 60,3% случаев (в контроле – в 100%), количество лимфобластов (центр размножения лимфоидных узелков) в 1,3 раза меньше контроля. Количество одиночных лимфоидных узелков на срезах бляшек узлов ($11,0 \pm 0,65$) даже на 90-е сутки восстановительного периода остается в 1,34 раза меньше контроля ($p < 0,05$), а доля лимфоидных узелков с центром размножения по отношению к общему количеству лимфоидных узелков ($70,0 \pm 2,39\%$) – в 1,08 раза меньше контроля ($p > 0,05$). Следует отметить, что комбинированное воздействие ионизирующей радиации в суммарной дозе 350 сГр и смеси химических

веществ на уровне предельно допустимой концентрации для пилотируемых космических аппаратов дополнительно к изолированному действию этих факторов сопровождается усилением эффектов повреждения органов кроветворения у мышей с угнетением их пролиферативной активности, снижением способности стволовых клеток красного костного мозга к восстановлению генетического аппарата (эффект неполной регенерации), что характеризует синергический характер взаимодействия факторов [15].

Имеются данные, согласно которым комплексность факторов длительного космического полета (невесомость, стресс, низкоинтенсивная радиация и др.) является причиной неполного восстановления тимуса, селезенки, паховых лимфатических узлов у крыс (на 25-27 сутки), в отличие от регенераторных процессов после изолированного действия каждого из них [17].

Заключение

Таким образом, в результате проведенных экспериментальных исследований определены некоторые закономерности морфогенеза пейеровых бляшек в условиях действия космических факторов:

- агрегированные лимфоидные узелки подвздошной кишки характеризуются высокой чувствительностью к последовательному действию радиационно-химического фактора, что проявляется уменьшением абсолютного количества клеток лимфоидного ряда, полным исчезновением типичных межклеточных ассоциаций, лимфобластов, клеток с картиной митоза, уменьшением содержания лимфоцитов;

- на 90-е сутки после окончания воздействия радиационно-химического фактора наблюдается тенденция к восстановлению структуры агрегированных лимфоидных узелков, когда размеры и количество лимфоидных узелков в их составе, абсолютное количество клеток лимфоидного ряда и клеточный состав лимфоидной ткани приближаются к контролю. Но полного восстановления лимфоидных бляшек в эти сроки не наблюдается.

Выявление этих закономерностей имеет большое значение для морфологии, клинической иммунологии, авиационной и космической медицины.

Литература

1. Ключкова, С. В. Реактивные изменения лимфоидных образований гортани крыс при воздействии паров ацетальдегида в условиях эксперимента / С. В. Ключкова, Л. Н. Мухамедиева // Рос. морфол. ведомости. – 1995. – № 3. – С. 25–26.
2. Межклеточные взаимодействия в условиях микрогравитации: эксперименты in vitro / Л. Б. Буравкова [и др.] / Авиакосм. и экол. медицина. – 2013. – Т. 47, № 1. – С. 68–72.
3. Buravkova, L. B. The effect of microgravity on the in vitro NK cell function during six International Space Station Missions / L. B. Buravkova, O. V. Grigorieva, M. P. Rykova // Microgravity Sci. Technol. – 2007 Sep. – Vol. 19, N 5. – P. 145–147.
4. Biochemical markers of bone tissue metabolism in cosmonauts after a prolonged spaceflight / B. V. Morukov [et al.] // Human. Physiology. – 2005 Nov. – Vol. 31, N 6. – С. 684–687.
5. Иммунологическая резистентность человека при длительной изоляции / И. В. Константинова [и др.] // Авиакосм. и экол. медицина. – 1997. – Т. 31, № 4. – С. 57–60.
6. Чава, С. В. Структурные характеристики иммунных образований селезенки мышей после воздействия радиационного фактора низкой интенсивности / С. В. Чава, Ю. В. Буклис // Морфол. ведомости. – 2011. – № 4. – С. 65–68.
7. Дозовые нагрузки и величины радиационного риска для космонавтов при экспедиции к Марсу на основе реальных конструкторских разработок марсианского корабля / А. В. Шафиркин [и др.] // Авиакосм. и экол. медицина. – 2010. – Т. 44, № 1. – С. 5–14.
8. Привес, М. Г. Биосоциальные проблемы современности и анатомия / М. Г. Привес // Арх. анатомии, гистологии и эмбриологии. – 1975. – Т. 69, № 10. – С. 5–16.
9. Морфологическая характеристика тимуса и селезенки при воздействии факторов различного происхождения / А. Г. Кварацхелия [и др.] // Журн. анатомии и гистопатологии. – 2016. – Т. 5, № 3. – С. 77–83.
10. Сапин, М. Р. Иммунная система, стресс и иммунодефицит / М. Р. Сапин, Д. Б. Никитюк. – М. : Джангар, 2000. – 184 с.
11. Современные представления об общих закономерностях макро-микроскопической анатомии лимфоидных органов / Д. Б. Никитюк [и др.] // Журн. анатомии и гистопатологии. – 2015. – Т. 4, № 2. – С. 9–13.
12. Григоренко, Д. Е. Морфофункциональные изменения некоторых периферических органов иммунной системы крыс после гипокинезии и в период адаптации / Д. Е. Григоренко, Г. Г. Аминова, К. А. Васянина // Морфология. – 2013. – Т. 144, № 6. – С. 47–51.
13. Морозова, Е. Н. Ультрамикроскопическое строение групповых лимфатических узелков половозрелых крыс после введения имунофана / Е. Н. Морозова, В. Н. Морозов // Науч. ведомости Белгород. гос. ун-та. Сер. Медицина. Фармация. – 2015. – Т. 30, № 10. – С. 196–200.
14. Jung, C. Peyer's patches: the immune sensors of the intestine / C. Jung, J.-P. Hugot, F. Barreau // Int. J. Inflam. – 2010. – Vol. 2010. – P. 823710.
15. Характеристика адаптационных процессов у мышей при хроническом комбинированном воздействии радиации и химических веществ (ацетона, этанола, ацетальдегида), характерном для межпланетных полетов / С. В. Татаркин [и др.] // Авиакосм. и экол. медицина. – 2012. – Т. 46, № 3. – С. 20–27.
16. Автандилов, Г. Г. Морфометрия в патологии : руководство / Г. Г. Автандилов. – М. : Медицина, 1993. – 383 с.
17. Дурнова, Г. Н. Изменения лимфоидных органов крысы при космических полетах / Г. Н. Дурнова, А. С. Капланский, В. В. Португалов // Арх. анатомии, гистологии и эмбриологии. – 1977. – Т. 72, № 5. – С. 14–20.

Поступила 02.03.2017 г.

Принята в печать 04.04.2017 г.

References

1. Klochkova SV, Mukhamedieva LN. Reactive changes of lymphoid formations of a larynx of rats at influence of steams of an acetaldehyde in experimental conditions. Ros Morfol Vedomosti. 1995;(3):25-6. (In Russ.)
2. Buravkova LB, Grigor'yeva OV, Konstantinova NA, Gershovich YuG, Gershovich PM. Intercellular interactions in the conditions of a microgravity: in vitro experiments. Aviakosm Ekol meditsina. 2013;47(1):68-72. (In Russ.)
3. Buravkova LB, Grigorieva OV, Rykova MP. The effect of microgravity on the in vitro NK cell function during six International Space Station Missions. Microgravity Sci Technol. 2007 Sep;19(5):145-7. doi: 10.1007/BF02919470
4. Morukov BV, Nichiporuk IA, Tretyakov VS, Larina IM. Biochemical markers of bone tissue metabolism in cosmonauts after a prolonged spaceflight. Human Physiology. 2005 Nov;31(6):684-7. doi: 10.1007/s10747-005-0115-z
5. Konstantinova IV, Antropova EN, Meshkov DO, Rykova MP, Lesnyak AT. Immunologic resistance of the person at long isolation. Aviakosm Ekol Meditsina. 1997;31(4):57-60. (In Russ.)
6. Chava SV, Buklis YuV. Structural characteristics of immune formations of a lien of mice after influence of a radiative factor of low intensity. Morfol Vedomosti. 2011;(4):65-8. (In Russ.)
7. Shafirkin AV, Kolomenskiy AV, Mitrikas VG, Petrov VM. Dose loads and sizes of radiative risk for astronauts at an expedition to Mars on the basis of real design developments of the Martian ship. Aviakosm Ekol Meditsina. 2010;44(1):5-14. (In Russ.)
8. Prives MG. Biosocial problems of the present and anatomy. Arkh Anatomii Gistologii Embriologii. 1975;69(10):5-16. (In Russ.)
9. Kvaratskheliya AG, Klochkova SV, Nikityuk DB, Alekseeva NT. The morphological characteristic of a thymus and lien at influence of factors of various parentage. Zhurn Anatomii Gistopatologii. 2016;5(3):77-83. (In Russ.)
10. Sapin MR, Nikityuk DB. Immune system, stress and immunodeficiency. Moscow, RF: Dzhangar; 2000. 184 p. (In Russ.)
11. Nikityuk DB, Klochkova SV, Alekseeva NT, Kvaratskheliya AG. Modern ideas of the general patterns of macro-microscopical anatomy of lymphoid organs. Zhurn

- Anatomii Gistopatologii. 2015;4(2):9-13. (In Russ.)
12. Grigorenko DE, Aminova GG, Vasyanina KA. Morfofunktsionalny changes of some peripheric organs of immune system of rats after a hypokinesia and during adaptation. *Morfologiya*. 2013;144(6):47-51. (In Russ.)
 13. Morozova EN, Morozov VN. An ultramicroscopic structure of group lymphatic nodules of pubertal rats after introduction of an imunofan. *Nauch Vedomosti Belgorod Gos Un-ta Ser Meditsina Farmatsiia*. 2015;30(10):196-200. (In Russ.)
 14. Jung C, Hugot J-P, Barreau F. Peyer's patches: the immune sensors of the intestine. *Int J Inflam*. 2010;2010:823710. doi: 10.4061/2010/823710
 15. Tatarkin SV, Shafirkin AV, Mukhamedieva LN, Barantseva MYu, Ivanova SM. The characteristic of adaptic processes at mice at the chronic combined influence of radiation and chemicals (acetone, ethanol, an acetaldehyde) characteristic of interplanetary flights. *Aviakosm Ekol Meditsina*. 2012;46(3):20-7. (In Russ.)
 16. Avtandilov GG. A morphometry in pathology: rukovodstvo. Moscow, RF: Meditsina; 1993. 383 p.
 17. Durnova GN, Kaplanskiy AS, Portugalov VV. Changes of lymphoid organs of a rat at space flights. *Arkh Anatomii Gistologii Embriologii*. 1977;72(5):14-20. (In Russ.)

Submitted 02.03.2017

Accepted 04.04.2017

Сведения об авторах:

Кварацхелия А.Г. – к.б.н., доцент кафедры нормальной анатомии человека, Воронежский государственный медицинский университет им. Н.Н. Бурденко, Россия;
 Васянина К.А. – к.м.н., ст.преподаватель кафедры анатомии человека, Первый Московский государственный медицинский университет им. И. М. Сеченова, Россия;
 Клочкова С.В. – д.м.н., профессор кафедры анатомии человека, Первый Московский государственный медицинский университет им. И. М. Сеченова, Россия;
 Атякшин Д.А. – д.м.н., директор НИИ Экспериментальной биологии и медицины, Воронежский государственный медицинский университет им. Н.Н. Бурденко, Россия;
 Алексеева Н.Т. – д.м.н., доцент, заведующая кафедрой нормальной анатомии человека, Воронежский государственный медицинский университет им. Н.Н. Бурденко, Россия;
 Никитюк Д.Б. – член-корр. РАН, д.м.н., профессор, директор, Федеральный исследовательский центр питания, биотехнологии и безопасности пищи, Россия;
 Усович А.К. – д.м.н., профессор, заведующий кафедрой анатомии человека, Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет.

Information about authors:

Kvaratskheliya A.G. – Candidate of Biological Sciences, associate professor of the Chair of General Human Anatomy, Voronezh State Medical University Named after N.N. Burdenko;
Vasyanina K.A. – Candidate of Medical Sciences, senior teacher of the Chair of Human Anatomy, the First Moscow State Medical University Named after I.M. Sechenov;
Klochkova S.V. – Doctor of Medical Sciences, professor of the Chair of Human Anatomy, the First Moscow State Medical University Named after I.M. Sechenov;
Atyakshin D.A. – Doctor of Medical Sciences, director of the Scientific Research Institute of Experimental Biology & Medicine, Voronezh State Medical University Named after N.N. Burdenko;
Alexeeva N.T. – Doctor of Medical Sciences, associate professor, head of the Chair of General Human Anatomy, Voronezh State Medical University Named after N.N. Burdenko;
Nikityuk D.B. – Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Doctor of Medical Sciences, professor, director of the Federal Research Centre of Nutrition, Biotechnology and Food Safety;
Usovich A.K. – Doctor of Medical Sciences, professor, head of the Chair of Human Anatomy, Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University.

Адрес для корреспонденции: Россия, 394036, г. Воронеж, ул. Студенческая, 10, Воронежский государственный медицинский университет им. Н.Н. Бурденко, кафедра нормальной анатомии человека. E-mail: alexeevant@list.ru – Алексеева Наталия Тимофеевна.

Correspondence address: Russia, 394036, Voronezh, 10 Studencheskaya str., Voronezh State Medical University Named after N.N. Burdenko, Chair of General Human Anatomy. E-mail: alexeevant@list.ru – Natalya T. Alexeeva.

ОСОБЕННОСТИ СОДЕРЖАНИЯ ЖИРОВОГО КОМПОНЕНТА ТЕЛА У ДЕВУШЕК РАЗНЫХ КОНСТИТУЦИОНАЛЬНЫХ ГРУПП

**АЛЕКСЕЕВА Н.Т.¹, УСОВИЧ А.К.², РОЖКОВА Е.А.³, АТЯКШИН Д.А.¹,
КВАРАЦХЕЛИЯ А.Г.¹, КЛОЧКОВА С.В.⁴, НИКИТЮК Д.Б.⁵, ГАСЫМОВА Т.М.⁶**

¹Воронежский государственный медицинский университет им. Н.Н. Бурденко, г. Воронеж, Россия

²Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет, г. Витебск, Республика Беларусь

³Московский научно-практический центр медицинской реабилитации, восстановительной и спортивной медицины Департамента здравоохранения г. Москвы, г. Москва, Россия

⁴Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова, г. Москва, Россия

⁵Федеральный исследовательский центр питания, биотехнологии и безопасности пищи, г. Москва, Россия

⁶Азербайджанский медицинский университет, г. Баку, Азербайджан

Вестник ВГМУ. – 2017. – Том 16, №2. – С. 51-57.

THE PECULIARITIES OF THE CONTENT OF THE BODY FAT COMPONENT IN GIRLS OF DIFFERENT CONSTITUTIONAL GROUPS

**ALEXEEVA N.T.¹, USOVICH A.K.², ROZHKOVA E.A.³, ATYAKSHIN D.A.¹,
KVARATSKHELIYA A.G.¹, KLOCHKOVA S.V.⁴, NIKITYUK D.B.⁵, GASIMOVA T.M.⁶**

¹Voronezh State Medical University Named after N. N. Burdenko, Voronezh, Russia

²Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University, Vitebsk, Republic of Belarus

³Moscow Centre for Research and Practice in Medical Rehabilitation, Restorative and Sports Medicine, Moscow, Russia

⁴The First Moscow State Medical University Named after I.M. Sechenov, Moscow, Russia

⁵The Federal Research Centre of Nutrition, Biotechnology and Food Safety, Moscow, Russia

⁶Azerbaijan Medical University, Baku, Azerbaijan

Vestnik VGMU. 2017;16(2):51-57.

Резюме.

Цель – определение у девушек в возрасте 19-20 лет содержания жирового компонента тела и особенностей распределения подкожно-жировой клетчатки в зависимости от конституциональной принадлежности.

Материал и методы. Обследовано 86 девушек 19-20 лет, представительниц славянского этноса, жительниц г. Москвы, практически здоровых. Девушки распределены по конституциональным группам по методу И. Б. Галанта (1927). Данные о толщине кожно-жировых складок получали методом калиперометрии. Абсолютное и процентное содержание жировой ткани определяли путем биоимпедансометрии. Статистическая обработка данных состояла в вычислении среднеарифметических показателей и их ошибок. Оценку достоверности различий проводили методом доверительных интервалов.

Результаты. Представительницы лептосомных групп конституций выявляются в 16,3% случаев, мезосомной группы – в 41,9% случаев, мегалосомной группы – в 33,7% случаев, неопределенной группы – в 8,1% случаев. Полученные цифровые данные о толщине кожно-жировых складок в разных областях тела демонстрируют, что изученные показатели существенно зависят от принадлежности женщины к той или иной конституциональной группе. Индивидуальные минимум и максимум толщины кожно-жировых складок всех изученных областей тела у представительниц лептосомной конституции существенно меньше, чем у женщин остальных конституциональных групп.

Заключение. В результате исследования было получено количественное представительство девушек разных конституциональных групп в изученной популяции; получены данные об особенностях распределения подкожно-жировой клетчатки, абсолютном и процентном содержании жировой и мышечной масс в зависимости от типа

конституции, материалы об индивидуальной изменчивости выраженности этих признаков.

Ключевые слова: определение соматотипа, антропометрия, конституциональные группы женщин.

Abstract.

Objectives. To determine the content of the body fat component and the distribution peculiarities of subcutaneous fat in girls aged 19-20 depending on their constitutional affiliation.

Material and methods. Apparently healthy 86 girls at the age of 19-20 representing the Slavic ethnic group and living in Moscow were examined. The girls were divided into constitutional groups by the method of I.B. Galant (1927). The data on the thickness of subcutaneous fat folds were obtained by calliperometry. The absolute and percentage content of the body fat was measured by bioimpedancemetry. The statistical data processing consisted in computing the arithmetic means and their errors. The assessment of the statistical assurance was performed by the method of confidence intervals. **Results.** The representatives of leptosomatic constitutional groups were identified in 16,3% of cases, mesosomatic group – in 41,9% of cases, megalosomatic group – in 33,7% of cases, indeterminate somatotypes – in 8,1% of cases. The obtained digital data on the thickness of subcutaneous fat folds in different areas of the body show that the studied indices depend significantly on the belonging of a girl to one or another constitutional group. The individual minimum and maximum thickness of the subcutaneous fat folds of all the studied areas of the body in the representatives of the leptosomatic group are substantially less than those in girls of the remaining constitutional groups.

Conclusions. The research has provided a quantitative representation of girls of different constitutional groups in the studied population. The data on the distribution peculiarities of subcutaneous fat, the absolute and percentage content of the body fat and muscle mass depending on the type of constitution as well as the materials about the individual variability of the degree of these characteristics expressiveness have been also obtained.

Key words: somatotype determination, anthropometry, constitutional groups of women.

Практическая значимость реализации антропометрического подхода в медицине во многом связана с ассоциированностью типа телосложения (соматотипа) и риском возникновения многих заболеваний [1]. Во всех странах мира и во всех слоях общества возрастает число людей, страдающих ожирением [2]. В связи с этим методы антропометрических обследований, способствующие выявлению людей, находящихся в зоне риска, важны для клиники, постоянно и успешно модифицируются [3]. Необходимость быстрого и эффективного обследования пациентов обуславливает переход от классических и трудоемких антропометрических методик [4, 5] к современным высокотехнологичным методам, позволяющим получить объективные данные о составе тела человека, количественных показателях основных структурных компонентов сомы [6]. При этом необходимо учитывать, что конституциональная принадлежность человека достаточно динамична на популяционном уровне, находится в зависимости от многих формообразующих факторов (возраст, пол, этнос, экологические и другие особенности), что требует постоянной ревизии соматического статуса человека. Не весь период индивидуального развития при этом с позиций анатомо-антропологической науки отражен в равной степени. Имеется достаточное количество публикаций о физическом развитии и особенно-

стях соматотипа в период новорожденности [8], в детском и подростковом возрастах [9], у людей зрелого, пожилого и старческого [10] возрастов. В меньшей степени уделяется внимание юношескому возрасту, что в определенной степени связано с интенсивными изменениями состава тела в этот период, необходимостью «дробного» анализа рассматриваемых показателей в возрастном аспекте (не более, чем в возрастном интервале одного-двух лет) [11].

Целью исследования явилось определение у девушек в возрасте 19-20 лет содержания жирового компонента тела и особенностей распределения подкожно-жировой клетчатки в зависимости от конституциональной принадлежности.

Материал и методы

В результате проведения комплексной антропометрии определили конституциональную принадлежность 86 девушек 19-20 лет, представительниц славянского этноса, жительниц г. Москвы, практически здоровых [11]. В фактический материал не включали случаи поражения опорно-двигательного аппарата, миастении и другой патологии, влияющей на формирование физического статуса. Распределение девушек по конституциональным группам проводили по методу И. Б. Галанта (1927) [12].

Соматотипирование проводили с учетом показателей обхватных размеров и диаметров запястья и лодыжки, размера кожно-жировой складки в области плеча, спины, живота, бедра (среднее значение данного показателя), абсолютного содержания жировой массы (подкожно-жировой клетчатки). В результате антропометрического исследования определено наличие астенического, стенопластического соматотипов (лептосомные конституции), пикнического, мезопластического соматотипов (мезосомные конституции), атлетического, субатлетического и эурипластического соматотипов (мегалосомные конституции). Принадлежность к конкретному соматотипу выражалась в относительных величинах, где за 100 % принимали общую совокупность девушек выбранной возрастной группы.

Измеряли длину и массу тела, индекс массы тела:

$$(I) = P/L^2,$$

где:

P – масса тела (кг),

L – длина тела (м).

С применением толстотного и скользящего циркулей (прошедших метрологическую поверку), с точностью 0,1 мм определяли диаметры в области конечностей, обхватные размеры измеряли сантиметровой лентой. Данные о толщине кожно-жировых складок получали методом калиперометрии. Абсолютное и процентное содержание жировой ткани определяли путем биоимпедансометрии, с использованием биоимпедансного анализатора (анализатор оценки баланса водного, белкового и липидного обмена) АВС-01 «МЕДАСС» (НТЦ «МЕДАСС», Москва) [6, 7]. Преимуществами биоимпедансного способа оценки соматотипа являются широта распространения однотипного биоимпедансного оборудования, оперативность метода и менее строгие требования, предъявляемые к квалификации специалиста, выполняющего измерения. При невозможности идентификации конкретной конституциональной группы ее рассматривали как неопределенную.

План проведения исследования одобрен на заседании локального этического комитета ФГБОУ ВО «Воронежский государственный медицинский университет им. Н.Н. Бурденко» Минздрава России. Статистическая обработка данных состояла в вычислении среднеарифметических показателей и их ошибок. Оценку достоверности различий проводили методом доверительных интервалов.

Результаты и обсуждение

По полученным данным, представительницы лептосомных групп конституций (астенический и стенопластический соматотипы) выявляются в 16,3% (14) случаев; девушки мезосомной группы (пикнический и мезопластический соматотипы) выявлены в 41,9% (36) случаев, мегалосомной группы (атлетический, субатлетический, эурипластический соматотипы) в 33,7% (29) случаев, неопределенной группы – в 8,1% (7) случаев. По сложившимся представлениям [11], женщины астенического соматотипа – узкосложенные, со слабым развитием мягких тканей. Последнее более типично для стенопластического соматотипа. В рамках мезосомных конституций представительницы пикнического соматотипа, в отличие от приземистых «коренастых» женщин мезопластического типа, имеют умеренное (или повышенное) развитие мягких тканей (особенно подкожно-жировой клетчатки), «сглаженные» контуры тела. Среди женщин мегалосомных конституций представительницы атлетического (и в меньшей степени – субатлетического) типа характеризуются преобладающим развитием скелетной мускулатуры, а эурипластического типа («тип тучной атлетички») – подкожно-жировой клетчатки. Каждая конституциональная группа и каждый соматотип имеют свои признаки, характеризующиеся сочетанием конкретных количественных градаций.

Методом калиперометрии у девушек 19-20 лет измерена толщина кожно-жировых складок в разных областях тела (табл. 1). Полученные цифровые данные демонстрируют, что изученные показатели существенно зависят от принадлежности женщины к той или иной конституциональной группе.

Так, у девушек толщина складки в области спины при лептосомной группе конституций в 1,8 раза меньше, чем при мезосомной ($p < 0,05$), в 1,3 раза меньше ($p < 0,05$) по сравнению со значением этого показателя у носительниц мегалосомной группы и в 1,2 раза меньше ($p < 0,05$), в сравнении с неопределенной конституцией. Толщина кожно-жировой складки в области груди у девушек лептосомной группы конституций меньше, чем у носительниц мезосомной группы в 2,5 раза ($p < 0,05$), по сравнению с мегалосомной группой – в 1,87 раза ($p < 0,05$) и в 1,9 раза меньше, чем у представительниц неопределенной группы конституции ($p < 0,05$). Толщина кожно-жировой складки в области живота у девушек лептосомной конституцио-

Таблица 1 – Толщина кожно-жировых складок разных областей тела девушек различных конституциональных групп ($X \pm Sx$; min-max, мм)

Область тела	Конституциональная группа			
	лептосомная	мезосомная	мегалосомная	неопределенная
Область спины	9,2±0,24	16,6±0,26	11,7±0,20	11,0±0,27
	5,6–16,0	11,6–24,5	5,9–19,0	6,5–13,4
Область груди	7,4±0,09	18,4±0,47	13,8±0,40	15,0±0,58
	3,6–13,5	6,2–29,7	5,0–25,0	11,2–16,0
Область живота	13,4±0,33	33,2±0,72	28,9±0,73	33,2±0,22
	9,0–23,4	18,0–54,0	12,0–48,5	30,0–36,3
Плечо, сзади	7,9±0,19	21,4±0,31	18,9±0,36	19,5±0,33
	4,5–12,3	11,3–32,2	8,4–31,0	14,5–23,0
Плечо, медиально	5,1±0,08	12,8±0,31	11,2±0,29	14,3±0,18
	3,9–7,5	6,6–22,4	4,5–19,2	11,1–16,3
Предплечье, медиально	3,9±0,14	13,3±0,16	6,9±0,25	11,7±0,25
	2,0–8,0	7,3–18,0	4,5–16,8	8,2–14,0
Бедро	10,1±0,24	22,8±0,27	22,1±0,67	25,2±0,32
	6,2–16,2	14,9–32,7	11,2–44,3	22,2–36,2
Голень	9,3±0,21	16,5±0,27	17,7±0,34	17,0±0,37
	6,0–14,5	8,8–22,4	8,0–25,4	12,5–21,4

нальной группы меньше, чем у представительниц мезосомной группы в 2,5 раза ($p < 0,05$), мегалосомной группы – в 2,2 раза ($p < 0,05$) и неопределенной группы – в 2,5 раза ($p < 0,05$). Толщина кожно-жировой складки задней области плеча у девушек лептосомной конституциональной группы в 2,7 раза меньше ($p < 0,05$) по сравнению со значением этого показателя у девушек мезосомной группы, в 2,2 раза меньше ($p < 0,05$), чем у девушек мегалосомной группы и в 2,5 раза меньше ($p < 0,05$), по сравнению с этим параметром у девушек неопределенной конституциональной группы. Этот же показатель в медиальной области плеча у девушек лептосомной конституциональной группы в 2,5 раза меньше ($p < 0,05$) по сравнению со значением этого показателя у девушек мезосомной группы, в 2,28 раза меньше ($p < 0,05$), чем у девушек мегалосомной группы и в 2,8 раза меньше ($p < 0,05$) по сравнению с этим параметром у девушек неопределенной конституциональной группы.

Толщина кожно-жировой складки медиальной области предплечья у девушек лептосомной конституциональной группы в 3,4 раза меньше ($p < 0,05$) по сравнению со значением этого показателя у девушек мезосомной группы, в 1,7 раза меньше ($p < 0,05$), чем у девушек мегалосомной группы и в 3,0 раза меньше ($p < 0,05$) по сравнению с этим параметром у девушек неопределенной конституциональной группы. Толщина кожно-жировой складки бедра у девушек лептосомной консти-

туциональной группы в 2,3 раза меньше ($p < 0,05$) по сравнению со значением этого показателя у девушек мезосомной группы, в 2,2 раза меньше ($p < 0,05$), чем у девушек мегалосомной группы и в 2,5 раза меньше ($p < 0,05$) по сравнению с этим параметром у девушек неопределенной конституциональной группы. Толщина кожно-жировой складки голени у девушек лептосомной конституциональной группы в 1,8 раза меньше ($p < 0,05$) по сравнению со значением этого показателя у девушек мезосомной группы, в 1,9 раза меньше ($p < 0,05$), чем у девушек мегалосомной группы и в 1,8 раза меньше ($p < 0,05$) по сравнению с этим параметром у девушек неопределенной конституциональной группы.

Индивидуальные минимум и максимум толщины кожно-жировых складок всех изученных областей тела у представительниц лептосомной конституции существенно меньше, чем показатели у женщин остальных конституциональных групп.

Использование метода биоимпедансометрии позволило получить данные об абсолютном и процентном содержании жирового компонента тела у девушек разных конституциональных групп (табл. 2).

По собственным данным, абсолютное количество жирового компонента сомы при лептосомии в 2,52 раза меньше ($p < 0,05$), чем при мезосомной группе конституций, в 3,03 раза мень-

Таблица 2 – Содержание жирового компонента тела у девушек различных конституциональных групп ($X \pm Sx$; min–max; в кг и %)

Показатель	Конституциональная группа, значение показателя			
	лептосомная	мезосомная	мегалосомная	неопределенная
абсолютное количество жирового компонента (кг)	8,2±0,2 5,0–11,9	20,7±0,4 12,3–26,4	24,9±0,5 18,2–29,4	17,2±0,3 11,6–24,2
относительное содержание жирового компонента (%)	18,5±0,2 15,0–26,4	32,8±0,4 24,8–40,3	29,8±0,6 21,5–36,4	28,4±0,3 22,0–31,5

ше ($p < 0,05$), чем при мегалосомной и в 2,2 раза меньше ($p < 0,05$), чем у девушек неопределенной конституциональной группы. Процентное содержание подкожно-жировой клетчатки у девушек лептосомной группы по сравнению с мезосомной в 1,78 раза меньше ($p < 0,05$), мегалосомной – в 1,6 раза меньше ($p < 0,05$) и неопределенной – в 1,54 раза меньше ($p < 0,05$). Индивидуальные минимум и максимум содержания жирового компонента сомы при лептосомии минимальные, при мегалосомии имеют максимальные, а при мезосомии и неопределенной конституциональной группе – промежуточные показатели (табл. 2).

Заключение

Таким образом, в результате исследования было получено количественное представительство девушек разных конституциональных групп в изученной популяции; получены данные об особенностях распределения подкожно-жировой клетчатки, абсолютном и процентном содержании жировой и мышечной масс в зависимости от типа конституции, материалы об индивидуальной изменчивости выраженности этих признаков. Цифровые данные демонстрируют, что изученные показатели существенно зависят от принадлежности женщины к той или иной конституциональной группе. Индивидуальные минимум и максимум толщины кожно-жировых складок всех изученных областей тела у представительниц лептосомной конституции минимальные, при мегалосомии имеют максимальные, а при мезосомии и неопределенной конституциональной группе – промежуточные показатели.

Полученные данные могут быть использованы при необходимости в качестве нормативов (и их персональных вариаций) при анализе физического развития девушек, что важно при профилактических осмотрах и во многих отраслях практической медицины.

Литература

1. Алиментарно-зависимая патология и конституциональный подход: перспективы использования и результаты / Д. Б. Никитюк [и др.] // Журн. анатомии и гистопатологии. – 2014. – Т. 3, № 1. – С. 16–19.
2. Бондарева, Э. А. Влияние эндогенных и экзогенных факторов на развитие ожирения / Э. А. Бондарева // Вестн. Моск. ун-та. Сер. 23, Антропология. – 2016. – Т. 4. – С. 27–36.
3. Антропологическое обследование в клинической практике / В. Г. Николаев [и др.]. – Красноярск : Изд-во КрасГМА, Версо, 2007. – 173 с.
4. Deurenberg, P. The assessment of the body fat percentage by skin fold thickness in childhood and young adolescence / P. Deurenberg, J. J. Pieters, J. G. Hautvast // Br. J. Nutr. – 1990 Mar. – Vol. 63, N 2. – P. 293–303.
5. Бунак, В. В. Методика антропометрических исследований / В. В. Бунак. – М. ; Л. : Госмедиздат, 1931. – 168 с.
6. Мартиросов, Э. Г. Технология и методы определения состава тела человека / Э. Г. Мартиросов, Д. В. Николаев, С. Г. Руднев. – М. : Наука, 2006. – 247 с.
7. О новом протоколе оценки соматотипа по схеме Хит-Картера в программном обеспечении биоимпедансного анализатора состава тела / В. А. Колесников [и др.] // Вестн. Моск. ун-та. Сер. 23, Антропология. – 2016. – Т. 4. – С. 4–13.
8. Крикун, Е. Н. Факторы изменчивости основных морфофункциональных показателей новорожденных Центрально-Черноземного района России / Е. Н. Крикун // Морфол. ведомости. – 2006. – № 1/2. – С. 148–150.
9. Антропометрический метод и клиническая медицина / Д. Б. Никитюк [и др.] // Журн. анатомии и гистопатологии. – 2013. – Т. 2, № 3. – С. 10–14.
10. Особенности некоторых показателей физического развития и частота встречаемости отдельных соматических типов женщин старших возрастных групп / А. Н. Разумов [и др.] // Вопр. питания. – 2016. – Т. 85, № 5. – С. 22–27.
11. Никитюк, Б. А. Морфология человека / Б. А. Никитюк, В. П. Чтецов. – М. : Изд-во Моск. ун-та, 1990. – 344 с.
12. Пашкова, И. Г. Характеристика анатомических компонентов тела и распределения соматотипов у девушек в условиях Карелии / И. Г. Пашкова // Экология человека. – 2011. – № 5. – С. 24–30.

Поступила 02.03.2017 г.

Принята в печать 04.04.2017 г.

References

1. Nikityuk DB, Alekseeva NT, Minnibaev TSh, Klochkova SV. Alimentary-dependent pathology and constitutional approach: prospects for the use and results. *Zhurn Anatomii Gistopatologii*. 2014;3(1):16-9. (In Russ.)
2. Bondareva EA. The influence of endogenous and exogenous factors on the development of obesity. *Vestn Mosk Un-ta Ser 23 Antropologii*. 2016;4:27-36. (In Russ.)
3. Nikolaev VG, Nikolaeva NN, Sindeeva LV, Nikolaeva LV. Anthropological examination in clinical practice. Krasnoyarsk, RF: Izd-vo KrasGMA, Verso; 2007. 173 p. (In Russ.)
4. Deurenberg P, Pieters JJ, Hautvast JG. The assessment of the body fat percentage by skin fold thickness in childhood and young adolescence. *Br J Nutr*. 1990 Mar;63(2):293-303.
5. Bunak VV. Methodology of anthropometric studies. Moscow, RF; Leningrad, RF: Gosmedizdat; 1931. 168 p. (In Russ.)
6. Martirosov EG, Nikolaev DV, Rudnev SG. The technology and methods for determining the composition of the human body. Moscow, RF: Nauka; 2006. 247 p. (In Russ.)
7. Kolesnikov VA, Rudnev SG, Nikolaev DV, Anisimova AV, Godina EZ. About the new Protocol of assessment of somatotype, according to the scheme of the Hit Carter in the software of bioimpedance body composition analyzer. *Vestn Mosk Un-ta Ser 23 Antropologii*. 2016;4:4-13. (In Russ.)
8. Krikun EN. Factors of variability of the main morfofunktsionalnykh of indicators of newborns of the Central Chernozem district of Russia. *Morfol Vedomosti*. 2006;(1-2):148-50. (In Russ.)
9. Nikityuk DB, Nikolenko VN, Khayrullin RM, Minnibaev TSh, Chava SV, Alekseeva NT. Anthropometric method and clinical medicine. *Zhurn Anatomii Gistopatologii*. 2013;2(3):10-4. (In Russ.)
10. Razumov AN, Vybornaya KV, Pogonchenkova IV, Rozhkova EA, Akyeva NK, Klochkova SV, i dr. Features of some indicators of physical development and the frequency of certain somatic types of women in older age groups. *Vopr Pitaniia*. 2016;85(5):22-7. (In Russ.)
11. Nikityuk BA, Chtetsov VP. The morphology of the person. Moscow, RF: Izd-vo Mosk un-ta; 1990. 344 p.
12. Pashkova IG. The characteristic of anatomic components of a body and distribution of somatotyp at girls in the conditions of Karelia. 2011;(5):24-30. (In Russ.)

Submitted 02.03.2017

Accepted 04.04.2017

Сведения об авторах:

Алексеева Н.Т. – д.м.н., зав. кафедрой нормальной анатомии человека, Воронежский государственный медицинский университет им. Н.Н. Бурденко;

Усович А.К. – д.м.н., профессор, зав. кафедрой анатомии человека, Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет;

Рожкова С.В. – д.б.н., профессор, зам. директора по науке, Московский научно-практический центр медицинской реабилитации, восстановительной и спортивной медицины;

Атякшин Д.А. – д.м.н., директор НИИ Экспериментальной биологии и медицины, Воронежский государственный медицинский университет им. Н.Н. Бурденко;

Кварацхелия А.Г. – к.б.н., доцент кафедры нормальной анатомии человека, Воронежский государственный медицинский университет им. Н.Н. Бурденко;

Клочкова С.В. – д.м.н., профессор кафедры анатомии человека, Первый Московский государственный медицинский университет им. И. М. Сеченова;

Никитюк Д.Б. – член-корр РАН, д.м.н., директор, Федеральный исследовательский центр питания, биотехнологии и безопасности пищи;

Гасимова Т.М. кызы – ассистент кафедры анатомии человека, Азербайджанский медицинский университет.

Information about authors:

Alekseyeva N.T. – Doctor of Medical Sciences, associate professor, head of the Chair of General Human Anatomy, Voronezh State Medical University Named after N.N. Burdenko;

Usovich A.K. – Doctor of Medical Sciences, professor; head of the Chair of Human Anatomy, Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University;

Rozhkova S.V. – Doctor of Biological Sciences, professor; deputy director on scientific affairs, Moscow Centre for Research and Practice in Medical Rehabilitation, Restorative and Sports Medicine;

Atyakhshin D.A. – Doctor of Medical Sciences, director of the Scientific Research Institute of Experimental Biology & Medicine, Voronezh State Medical University Named after N.N. Burdenko;

Kvaratskheliya A.G. – Candidate of Biological Sciences, associate professor of the Chair of General Human Anatomy, Voronezh State Medical University Named after N.N. Burdenko;

Klochkova S.V. – Doctor of Medical Sciences, professor of the Chair of Human Anatomy, the First Moscow State Medical University Named after I.M. Sechenov;

Nikityuk D.B. – Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Doctor of Medical Sciences, professor, director of the Federal Research Centre of Nutrition, Biotechnology and Food Safety;

Gasimova T.M. – teacher of the Chair of Human Anatomy, Azerbaijan Medical University.

Адрес для корреспонденции: Российская Федерация, 394036, г. Воронеж, ул. Студенческая, 10, Воронежский государственный медицинский университет им. Н.Н. Бурденко, кафедра нормальной анатомии человека. E-mail: alexeevant@list.ru – Алексеева Наталия Тимофеевна.

Correspondence address: Russia, 394036, Voronezh, 10 Studencheskaya str., Voronezh State Medical University Named after N.N. Burdenko, Chair of General Human Anatomy. E-mail: alexeevant@list.ru – Natalya T. Alexeeva.

ОСОБЕННОСТИ НАРУШЕНИЙ NO-ЗАВИСИМЫХ МЕХАНИЗМОВ РЕГУЛЯЦИИ ТОНУСА СОСУДОВ СЕРДЦА КРЫС, ПЕРЕНЕСШИХ ДЕЙСТВИЕ СТРЕССОРОВ В ПРЕНАТАЛЬНОМ ПЕРИОДЕ

БЕЛЯЕВА Л.Е., ФЕДЧЕНКО А.Н., ЛАЗУКО С.С., ЛИГЕЦКАЯ И.В., ОРЕХОВА Н.И.

Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет, г. Витебск, Республика Беларусь

Вестник ВГМУ. – 2017. – Том 16, №2. – С. 58-69.

THE PECULIARITIES OF DISORDERS OF NO-DEPENDENT MECHANISMS REGULATING CORONARY VESSELS TONE OF RATS WHICH FELT THE STRESSORS EFFECT IN THE PRENATAL PERIOD

BELYAEVA L.E., FEDCHENKO A.N., LAZUKO S.S., LIGETSKAYA I.V., OREKHOVA N.I.

Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University, Vitebsk, Republic of Belarus

Vestnik VGMU. 2017;16(2):58-69.

Резюме.

Цель: изучить роль оксида азота, образуемого эндотелиоцитарной и индуцибельной NO-синтазой, в механизмах снижения тонуса сосудов сердца и нарушения сократительной активности миокарда у половозрелых крыс, матери которых перенесли действие стрессоров на организм во время беременности.

Материал и методы. Эксперименты выполнены на изолированных по методу Лангендорфа сердцах (n=121) белых беспородных 3-месячных крыс, матери которых подвергались хроническому стрессу во время беременности. Сердца, сокращающиеся в изометрическом режиме в условиях постоянного потока, перфузировали раствором Кребса-Хензеля стандартного состава а) в условиях интактной NO-синтазы; б) при добавлении в раствор не-селективного ингибитора NO-синтазы метилового эфира N-ω-нитро-L-аргинина (L-NAME, 60 мкМ); в) при введении в перфузионный раствор селективного ингибитора индуцибельной NO-синтазы S-метилизотиомочевина (S-MT, 10 мкМ). Исследовали изменения коронарного перфузионного давления (КПД), развиваемого внутрижелудочкового давления (РВД), а также скорости сокращения и расслабления миокарда в условиях ингибирования различных изоформ NO-синтаз.

Результаты. Под влиянием как L-NAME, так и S-MT в сердцах самцов, перенесших пренатальный стресс, сниженные значения КПД статистически значимо повышались. Несмотря на то, что снижения КПД в изолированных сердцах самок после пренатального стресса обнаружено не было, используемые ингибиторы NO-синтазы не вызывали статистически значимого повышения КПД в изолированных сердцах самок, матери которых подвергались действию стрессоров во время беременности. Более того, значения КПД, зарегистрированные в сердцах самок группы «потомство-стресс» в условиях введения L-NAME в перфузионный раствор, оказались на 16,6-27,8% меньше, чем в изолированных сердцах самок контрольного потомства при использовании этого ингибитора NO-синтазы. Ни L-NAME, ни S-MT не восстанавливали сниженные после пренатального стресса РВД, а также скорость сокращения и расслабления миокарда.

Закключение. Характер образования оксида азота эндотелиоцитарной и индуцибельной NO-синтазой в коронарных сосудах половозрелых самок и самцов, матери которых перенесли хронический стресс во время беременности, существенно отличается. Гиперпродукция оксида азота является важной причиной снижения базального тонуса сосудов изолированных сердец 3-месячных самцов, матери которых подвергались действию стрессоров во время беременности. Избыточное образование NO в миокарде крыс, перенесших пренатальный стресс, не является основной причиной снижения сократительной функции сердца у этих животных.

Ключевые слова: пренатальный стресс, коронарные сосуды, оксид азота, эндотелиоцитарная NO-синтаза, индуцибельная NO-синтаза.

Abstract.

Objectives. To investigate the role of nitric oxide produced by the endotheliocytic and inducible NO-synthase in the mechanisms of decreasing coronary vessels tone and disorders of the myocardium contractility in mature rats whose mothers felt the stressors effect during their pregnancy.

Material and methods. The experiments were performed on the isolated by Langendorff method hearts ($n=121$) of white mongrel 3-month rats whose mothers were exposed to chronic stress during their pregnancy. The hearts contracting in isometrical mode in the conditions of the constant coronary flow, were perfused with standard Krebs-Henseleit solution a) on intact NO-synthase activity; b) on adding a non-selective inhibitor of NO-synthase of N- ω -nitro-L-arginine methyl ester (L-NAME, 60 μ M) to the solution; c) on adding selective inhibitor of inducible NO-synthase of S-methylisothiourea (S-MT, 10 μ M) to the perfused solution. Changes in coronary perfusion pressure (CPP), developed intraventricular pressure (DIP) and the velocity of contraction and relaxation of the myocardium during inhibition of different isoforms of NO-synthases were investigated.

Results. Under the influence of both L-NAME and S-MT decreased values of CPP increased statistically significantly in the hearts of males that underwent prenatal stress. Despite the fact that there was no reduction of CPP in the isolated hearts of females after prenatal stress, the applied inhibitors of NO-synthase did not cause any statistically significant increase of CPP in the isolated hearts of females whose mothers were exposed to the stressors effect during pregnancy. Moreover, the values of CPP registered in the hearts of the females of the group "the offspring-stress" after the introduction of L-NAME into the perfusion solution turned out to be by 16,6-27,8 % lower than those in the isolated hearts of the control female offspring after using this NO-synthase inhibitor. Neither L-NAME nor S-MT restored reduced after prenatal stress DIP, as well as the velocity of contraction and relaxation of the myocardium.

Conclusions. The character of nitric oxide formation by the endotheliocytic and inducible NO-synthase is significantly different in the coronary vessels of mature females and males whose mothers underwent chronic stress during pregnancy. Hyperproduction of nitric oxide is an important cause of the reduction of basal vascular tone of the isolated hearts of 3-month males whose mothers experienced the stressors effect during pregnancy. The excessive formation of NO in the myocardium of rats exposed to prenatal stress, is not the main cause of decreased contractile function of the heart in these animals.

Key words: *prenatal stress, coronary vessels, nitric oxide, endotheliocytic NO-synthase, inducible NO-synthase.*

Воздействие различных стрессоров на организм во время беременности способствует развитию структурных и функциональных отклонений сердечно-сосудистой системы у потомства, что создает предпосылки для высокой уязвимости сердца и кровеносных сосудов к действию патогенов и программирует развитие различных заболеваний сердечно-сосудистой системы в постнатальной жизни [1]. Так, интересные результаты были получены в ходе масштабного эпидемиологического исследования в Германии, целью которого была оценка распространенности заболеваний сердечно-сосудистой системы в популяции лиц ($n=50\,940$) в возрасте до 40 лет, матери которых за год до наступления беременности или во время беременности перенесли психоэмоциональный стресс вследствие гибели кровных родственников, супругов или лишения родительских прав. Пренатальный стресс увеличивал риск развития заболеваний сердца и артериальной гипертензии у таких индивидуумов, причем распространенность заболеваний сердечно-сосудистой системы была несколько выше среди женщин, но не среди мужчин, матери которых перенесли стресс не-

задолго до возникновения беременности или в ходе её [2]. Более того, риск развития этих заболеваний особенно возрастал в случаях, когда смерть близкого родственника беременной женщины была непредсказуемой, внезапной. Именно непредсказуемость развития дистресса у некоторых беременных побуждает, во-первых, исследовать механизмы программирования заболеваний сердечно-сосудистой системы у их детей и, во-вторых, проводить поиск способов минимизации последствий пренатального стресса в тех случаях, когда предотвратить его невозможно. В этом смысле экспериментальные исследования на животных особенно актуальны, так как большая плодовитость и меньшая продолжительность жизни экспериментальных животных, по сравнению с таковыми у человека, позволяют получить значительное количество данных в течение сравнительно короткого промежутка времени.

Ранее нами было показано, что действие стрессоров на организм беременных крыс оставляет специфические «следы», выявляемые в изолированных сердцах их 3-месячного потомства. Эти «следы» характеризовались снижением ба-

зального тонуса сосудов сердца, нарушением их ауторегуляторной способности, снижением давления, развиваемого миокардом левого желудочка, а также признаками его систолической и диастолической дисфункции [3]. Известно, что базальный тонус коронарных сосудов изолированного сердца определяется структурными и функциональными свойствами сосудистой стенки и, главным образом, – состоянием сосудистых гладкомышечных клеток, которое изменяется под влиянием вазоконстрикторов и вазодилататоров [4]. Оксид азота, наряду с фактором гиперполяризации и простаглинном, являются основными вазодилататорами эндотелиоцитарного происхождения, способными ослаблять базальный тонус сосудов сердца [5]. Метаболиты, образующиеся в миокарде в условиях его гиперфункции, также способны снижать тонус сосудов сердца [6]. Характер образования оксида азота в коронарных артериях половозрелого потомства, матери которых подвергались «хроническому непредсказуемому стрессу» во время беременности, неизвестен, так же, как и вклад этого оксида азота в механизмы нарушения тонуса сосудов сердца и его сократительной активности. Цель работы – изучить роль оксида азота, образуемого различными изоформами NO-синтазы, в механизмах снижения тонуса сосудов сердца и нарушения сократительной активности миокарда у половозрелых крыс, матери которых перенесли действие стрессоров на организм во время беременности.

Материал и методы

Эксперименты на животных проводились в соответствии с требованиями Женевской конвенции «International Guiding Principles for Biomedical Involving Animals» (Geneva, 1990). После наступления беременности у 4-месячных крыс, первым днем наступления которой считался день обнаружения сперматозоидов во влагалищном мазке, методом случайного выбора формировали две группы, одна из которых была необходима для рождения контрольного потомства. Беременных крыс второй группы подвергали нескольким видам стрессорных воздействий в виде лишения

пищи в течение суток, 20-минутной иммобилизации в воде ($t=23\pm 2^{\circ}\text{C}$) в пластиковом пенале, а также обеспечивая контакт с экскрементами *Felis* в течение одних суток по описанной ранее методике [3]. После рождения потомства за ним наблюдали в течение 3 месяцев, а затем внутрибрюшинно вводили крысам гепарин (500 ЕД/кг) и нембутал (60 мг/кг), и на препаратах изолированных по методу Лангендорфа сердец крыс ($n=121$) исследовали тонус коронарных сосудов и сократительную функцию миокарда с использованием установки для перфузии изолированного сердца мелких лабораторных животных ИН-SR типа 844/1 (HSE-НА, ФРГ), оборудованную датчиками для измерения аортального и развиваемого внутрижелудочкового давления (Isotec pressure transducer). Датчики были соединены с модулями для измерения давления ТАМ-А, HSE-НА. Изолированные сердца крыс сокращались в постоянном ритме с частотой 240 в минуту при подаче импульсов от электростимулятора С типа – 224 (HSE-НА, ФРГ) при объемной скорости коронарного потока (ОСКП), составлявшей 6, 8, 10 и 15 мл/мин., в изометрическом режиме (с латексным баллончиком, введенным в полость левого желудочка). Компьютерную регистрацию и обработку измеряемых показателей осуществляли с помощью программы ACAD (HSE, ФРГ). По истечении 15 мин., необходимых для стабилизации работы сердца, регистрировали коронарное перфузионное давление (КПД), а также силовые и скоростные показатели его работы: развиваемое внутрижелудочковое давление (РВД), скорость сокращения и расслабления миокарда левого желудочка.

В первой серии экспериментов сердца перфузировали раствором Кребса-Хензеля стандартного состава, насыщенным карбогеном (95% O_2 и 5% CO_2); во второй серии опытов в перфузионный раствор добавляли неселективный ингибитор NO-синтазы – метиловый эфир N- ω -нитро-L-аргинина (L-NAME) в концентрации 60 мкМ; в третьей серии экспериментов в перфузионный раствор добавляли селективный ингибитор индуцибельной NO-синтазы (iNOS) S-метилизотиомочевину (S-MT) в дозе 10 мкМ.

Статистическую обработку цифровых данных, представленных в виде Ме (15%; 85%), проводили с помощью программы «Statistica 10.0», с использованием U-критерия Манна-Уитни. Различия цифровых показателей считали статистически значимыми при $p<0,05$.

Результаты

В первой серии экспериментов при перфузии изолированных сердец крыс раствором Кребса-Хензлелайта стандартного состава было установлено, что ступенчатое увеличение ОСКП от 6 до 15 мл/мин. сопровождалось приростом КПД во всех группах (рис. 1а, 1б, 2а, 2б). Однако в сердцах самцов группы «потомство-стресс» КПД оказалось сниженным на 13,5 и 30,7% при ОСКП 10 и 15 мл/мин., по сравнению со значениями КПД, выявленными в группе «потомство-контроль» соответствующего пола. В сердцах самцов группы «потомство-стресс» также выявляли сниженное РВД при всех уровнях ОСКП в среднем на 38,5%, по сравнению с таковым, обнаруженным в сердцах самцов группы «потомство-контроль». Скорость как сокращения, так и расслабления миокарда левого желудочка (dLVPdp max и dLVPdp min) самцов, перенесших пренатальный стресс, оказалась сниженной примерно в одинаковой степени – на 35,6 и 38,6%, соответственно, по сравнению с аналогичными показателями в сердцах самцов группы «потомство-контроль» при ОСКП 8 мл/мин. (табл. 1). Это свидетельствует о снижении миогенного тонуса сосудов сердца и нарушении его сократительной функции у 3-месячных самцов, матери которых подвергались действию стрессоров во время беременности.

В то же время, величины КПД, зарегистрированные при перфузии сердец самок группы «потомство-стресс», не отличались от соответствующих значений, обнаруженных в сердцах самок группы «потомство-контроль» при всех уровнях ОСКП. При этом РВД в сердцах самок, матери которых подвергались действию стрессоров во время беременности, оказались сниженными в среднем на 26,5% при ОСКП 8-15 мл/мин., по сравнению с величинами РВД, зарегистрированными в сердцах самок контрольного потомства (табл. 2). Скорость сокращения и расслабления миокарда сердец самок, матери которых подвергались действию стрессоров во время беременности, не отличалась от показателей сократительной функции миокарда, выявленных в сердцах самок контрольного потомства. Следовательно, базальный тонус сосудов сердца самок, перенесших пренатальный стресс, не изменялся, но у этих животных снижалась сократительная функция изолированного сердца.

Во второй серии экспериментов в перфу-

зионный раствор добавляли L-NAME, неселективный ингибитор NO-синтазы, pIC₅₀ которого для индуцибельной и эндотелиоцитарной NO-синтазы составляет 4,3 и 5,6, соответственно [7]. В условиях применения L-NAME КПД, регистрируемое в сердцах самцов группы «потомство-контроль» статистически значимо увеличивалось при всех уровнях ОСКП, причем в среднем прирост составил 36,3% (сравнение с показателями, зарегистрированными в сердцах контрольного потомства с интактной NO-синтазой, рис. 1а). Давление, развиваемое миокардом левого желудочка в изолированных сердцах контрольного потомства-самцов, напротив, уменьшалось при всех уровнях ОСКП в среднем на 37,8%, по сравнению с РВД, зарегистрированным в сердцах контрольного потомства без использования L-NAME (табл. 1). Под влиянием этого ингибитора скорость сокращения и расслабления миокарда изолированных сердец крыс-самцов группы «потомство-контроль» статистически значимо уменьшалась при ОСКП, составлявшей 8, 10 и 15 мл/мин. (табл. 1). Сходный характер изменений КПД и РВД был выявлен и при добавлении L-NAME в раствор при перфузии сердец самок контрольного потомства: прирост КПД составил в среднем 35,8% (рис. 2а), а падение РВД – 27,9% в среднем, по сравнению с показателями, полученными при перфузии сердец-самок группы «потомство-контроль» в условиях интактной NO-синтазы (табл. 2). Снижение скорости сокращения и расслабления миокарда под влиянием L-NAME в этих сердцах было статистически не значимым. Эти результаты указывают на важную роль базальной продукции NO в механизмах поддержания тонуса сосудов сердца и его сократительной активности в контроле.

Ингибирование NO-синтазы с помощью L-NAME в изолированных сердцах самцов группы «потомство-стресс» также сопровождалось статистически значимым приростом КПД, по сравнению со значениями, зарегистрированными в сердцах самцов этой же группы в условиях сохраненной активности NO-синтазы, при всех изучаемых уровнях ОСКП (рис. 1а). Однако, при ОСКП 10 и 15 мл/мин., КПД под влиянием L-NAME все же был на 25,8 и 29,0% ниже, соответственно, по сравнению с величинами КПД, зарегистрированными в сердцах самцов контрольного потомства с введением этого же ингибитора (рис. 1а). Сниженные показатели РВД, а также dLVPdp max и dLVPdp min в сердцах самцов, ма-

Таблица 1 – Показатели сократительной способности миокарда изолированного сердца крыс-самцов, перенесших пренатальный стресс, в условиях интактной и ингибированной NO-синтазы

	ОСКП, мл/мин	к ♂ (n=10)	с ♂ (n=11)	к ♂ L-NAME (n=10)	с ♂ L-NAME (n=10)	к ♂ S-MT (n=10)	с ♂ S-MT (n=10)
РВД, мм рт.ст.	6	50,40 (35,60; 69,40)	32,10* (22,50; 45,60)	30,20* (21,40; 34,10)	32,25* (28,40; 38,20)	55,60 (47,10; 65,90)	33,60* (18,10; 63,00)
	8	75,80 (53,30; 97,10)	42,90* (35,70; 55,30)	43,40* (35,40; 57,50)	41,10* (37,00; 56,60)	76,30 (58,30; 94,70)	43,60*, ^S (38,30; 45,00)
	10	86,70 (70,70; 108,80)	53,20* (47,40; 73,00)	55,35* (48,40; 80,30)	52,40* (42,40; 63,20)	90,75 (70,00; 123,50)	55,60*, ^S (49,70; 84,60)
	15	115,05 (99,00; 135,80)	74,00* (66,80; 107,80)	78,10* (64,20; 93,40)	72,30* (58,30; 81,80)	116,85 (95,10; 155,00)	83,40*, ^S (70,90; 90,50)
dIVPdp max, мм рт.ст.	6	1010,00 (740,00; 1511,00)	1002,00 (718,00; 1480,00)	833,00 (740,00; 1018,00)	937,00 (848,00; 1141,00)	1130,00 (769,00; 1697,00)	984,50 (771,00; 1403,00)
	8	1835,00 (1230,00; 2375,00)	1141,00* (949,00; 1588,00)	894,00* (864,00; 1419,00)	1332,00 (1079,00; 1480,00)	1688,50 (1108,00; 2406,00)	1249,00* (1110,00; 1357,00)
	10	2205,00 (1479,00; 3025,00)	1419,00 (1280,00; 2976,00)	1210,00* (1002,00; 1650,00)	1516,50* (1095,00; 1665,00)	2163,50 (1576,00; 3207,00)	1527,00*, ^S (1326,00; 1943,00)
	15	2613,50 (1555,00; 3567,00)	1820 (1604,00; 3514,00)	1916,50* (1342,00; 2483,00)	1690,00* (1465,00; 2113,00)	2483,00 (1983,00; 4210,00)	2043,00*, ^S (1774,00; 2246,00)
dIVPdp min, мм рт.ст.	6	655,00 (555,00; 956,00)	586,00 (540,00; 941,00)	640,50 (465,00; 802,00)	577,50 (467,00; 796,00)	786,50 (525,00; 987,00)	626,00 (386,00; 817,00)
	8	1079,50 (756,00; 1388,00)	663,00* (586,00; 1079,00)	759,00* (654,00; 1064,00)	714,00* (601,00; 961,00)	1236,00 (617,00; 1357,00)	748,00* (571,00; 894,00)
	10	1318,00 (963,00; 1866,00)	833,00 (756,00; 2020,00)	952,50* (862,00; 1396,00)	879,00* (725,00; 1234,00)	1226,00 (864,00; 2113,00)	979,00* (768,00; 1143,00)
	15	1734,50 (1370,00; 2005,00)	1172,00 (1091,00; 2020,00)	1276,50* (987,00; 1659,00)	1141,00* (848,00; 1372,00)	1522,50 (1187,00; 2483,00)	1218,00*, ^S (925,00; 1480,00)

Примечания: * – $p < 0,05$ – сравнение с группой «контроль»; S – $p < 0,05$ сравнение с группой «контроль + SMT»; к – группа «контроль»; с – группа «стресс»; ♂ – самцы; ♀ – самки; S-MT – введение S-метилизотиомочевина в перфузионный раствор; L-NAME – введение метилового эфира N-ω-нитро-L-аргинина в перфузионный раствор.

тери которых подвергались действию стрессоров во время беременности, под влиянием L-NAME не восстанавливались при всех изучаемых уровнях ОСКП (табл. 1). По-видимому, гиперпродукции NO в миокарде самцов, перенесших пренатальный стресс, не наблюдалось.

Прирост КПД в сердцах самок группы «потомство-стресс» под действием L-NAME был статистически не значимым. Более того, КПД в этих сердцах было меньше, чем в сердцах самок-контрольного потомства при использовании этого ингибитора NO-синтазы на 16,6-27,8% при

Таблица 2 – Показатели сократительной способности миокарда изолированного сердца крыс-самок, перенесших пренатальный стресс, в условиях интактной и ингибированной NO-синтазы

	ОСКП, мл/мин	к ♀ (n=10)	с ♀ (n=10)	к ♀ L-NAME (n=10)	с ♀ L-NAME (n=10)	к ♀ S-MT (n=10)	с ♀ S-MT (n=10)
РВД, мм рт.ст.	6	48,60 (30,70; 58,00)	36,70 (29,10; 44,90)	29,00* (25,00; 36,30)	35,40* (23,90; 39,80)	44,20 (28,50; 50,80)	36,40 (28,90; 41,40)
	8	72,30 (66,20; 73,40)	49,15* (39,00; 58,40)	57,90* (41,40; 70,30)	54,70* (38,00; 64,00)	68,30 (53,20; 80,10)	47,50 (41,90; 76,30)
	10	89,40 (80,90; 98,10)	69,65* (47,10; 92,30)	70,00* (43,90; 74,50)	70,00* (52,70; 79,40)	83,20 (58,70; 94,60)	55,40*,s (42,50; 82,40)
	15	109,50 (94,30; 125,00)	81,80* (64,10; 109,00)	77,00* (59,20; 78,30)	90,00* (65,70; 100,00)	100,65 (89,00; 106,90)	69,30*,s (54,50; 91,40)
dlVPdp max, мм рт.ст.	6	948,50 (555,00; 1804,00)	946,50 (864,00; 1912,00)	940,50 (598,00; 1064,00)	802,00 (632,00; 1110,00)	880,50 (786,00; 964,00)	940,50 (571,00; 1172,00)
	8	1226,00 (586,00; 2113,00)	1187,50 (956,00; 2020,00)	1172,00 (764,00; 1403,00)	1087,00 (864,00; 1712,00)	1085,00 (956,00; 1542,00)	1162,00 (910,00; 1635,00)
	10	1557,50 (833,00; 2406,00)	1603,50 (1249,00; 2344,00)	1203,00 (875,00; 1658,00)	1303,00 (1095,00; 2020,00)	1322,00 (1079,00; 1573,00)	1404,50 (1126,00; 1897,00)
	15	1642,00 (879,00; 3069,00)	1819,50 (1588,00; 2606,00)	1423,50 (942,00; 1728,00)	1735,00 (1295,00; 2529,00)	1387,50 (1218,00; 1626,00)	1627,00 (1162,00; 2298,00)
dlVPdp min, мм рт.ст.	6	539,50 (401,00; 1018,00)	655,50 (609,00; 895,00)	609,00 (446,00; 848,00)	555,50 # (447,00; 678,00)	632,50 (403,00; 771,00)	602,50 (447,00; 740,00)
	8	821,00 (493,00; 1434,00)	894,50 (586,00; 1164,00)	783,50 (571,00; 1127,00)	725,00 (601,00; 1095,00)	738,00 (632,00; 1110,00)	752,00 (555,00; 1033,00)
	10	1195,00 (540,00; 1604,00)	1118,00 (833,00; 1635,00)	948,50 (740,00; 1295,00)	879,00 (771,00; 1296,00)	848,00 (725,00; 1264,00)	892,50 (725,00; 1172,00)
	15	1164,00 (524,00; 1881,00)	1233,50 (971,00; 1681,00)	1071,50 (844,00; 1364,00)	1095,00 (864,00; 1218,00)	1098,00 (1002,00; 1326,00)	1128,50 (989,00; 1207,00)

Примечание: * – $p < 0,05$ сравнение с группой потомство-контроль; # – $p < 0,05$ – сравнение с группой «стресс»; S – $p < 0,05$ сравнение с группой потомство-контроль+SMT; к – группа «контроль»; с – группа «стресс»; ♂ – самцы; ♀ – самки; S-MT – введение S-метилизотиомочевины в перфузионный раствор; L-NAME – введение метилового эфира N-ω-нитро-L-аргинина в перфузионный раствор.

ОСКП, составлявшей 8, 10 и 15 мл/мин. (рис. 2а). Эти данные требуют осмысления, т.к., несмотря на отсутствие снижения базального тонуса коронарных сосудов у самок, перенесших пренатальный стресс, сократительный ответ сосудов

изолированного сердца на L-NAME оказался сниженным. Сниженные показатели РВД в сердцах самок группы «потомство-стресс» под влиянием L-NAME не восстанавливались до контрольных значений, а скорость сокращения и расслабления

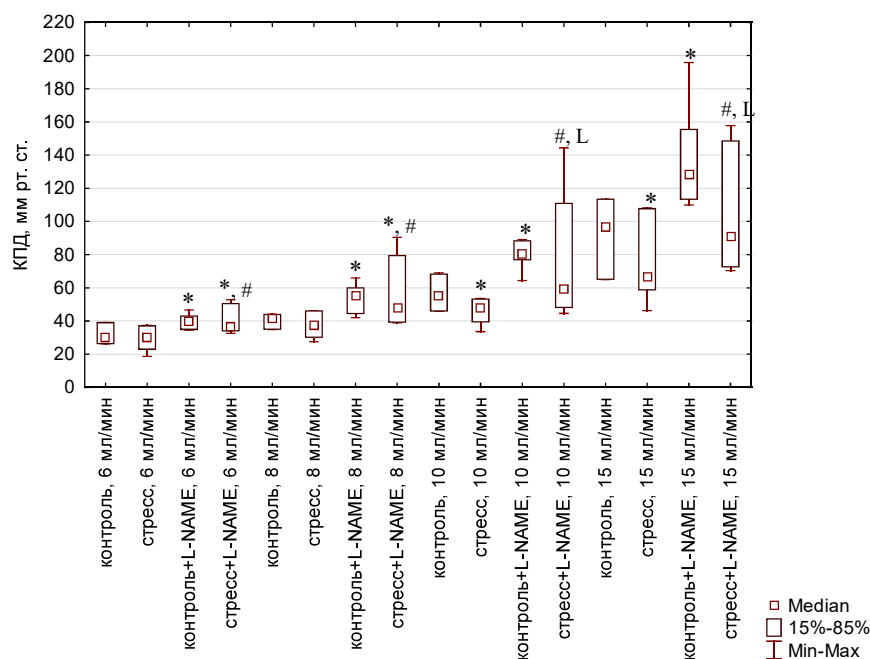


Рисунок 1а – Величины КПД, зарегистрированные в изолированных сердцах потомства-самцов в условиях применения L-NAME, мм рт. ст.: * – $p < 0,05$ сравнение с группой «потомство-контроль» при соответствующем уровне ОСКП; # – $p < 0,05$ сравнение с группой «потомство-стресс» при соответствующем уровне ОСКП; L – $p < 0,05$ сравнение с группой «потомство-контроль+L-NAME» при соответствующем уровне ОСКП.

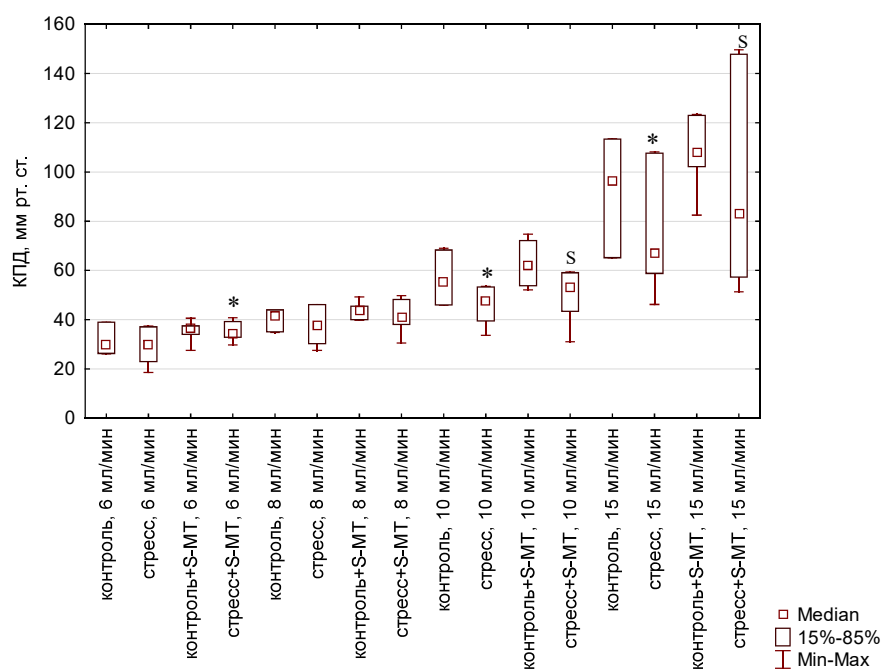


Рисунок 1б – Величины КПД, зарегистрированные в изолированных сердцах потомства-самцов в условиях применения S-MT, мм рт. ст.: * – $p < 0,05$ сравнение с группой «потомство-контроль» при соответствующем уровне ОСКП; S – $p < 0,05$ сравнение с группой «потомство-контроль+SMT» при соответствующем уровне ОСКП.

миокарда статистически значимо не изменялась и не отличалась от контрольных цифр (табл. 2). Вероятно, снижение РВД в сердцах крыс-самок, перенесших пренатальный стресс, не было обу-

словлено гиперпродукцией NO в миокарде.

В третьей серии экспериментов для изучения роли оксида азота, синтезируемого индуцибельной NO-синтазой, в механизмах нарушения

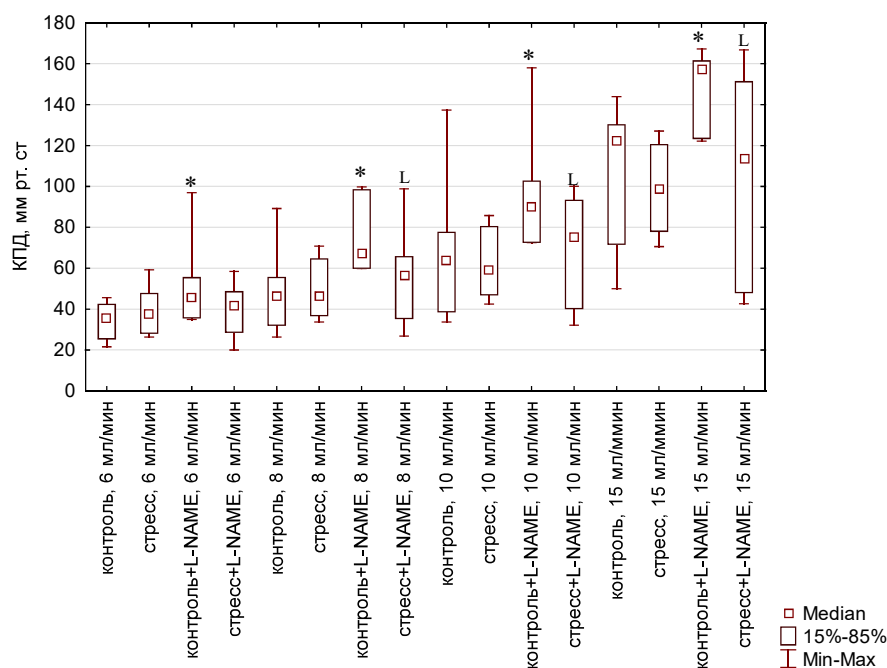


Рисунок 2а – Влияние ингибитора NO-синтазы L-NAME на величины КПД, зарегистрированные в изолированных сердцах потомства-самок, мм рт. ст.: * – $p < 0,05$ сравнение с группой «потомство-контроль» при соответствующем уровне ОСКП; L – $p < 0,05$ сравнение с группой «потомство-контроль+L-NAME» при соответствующем уровне ОСКП.

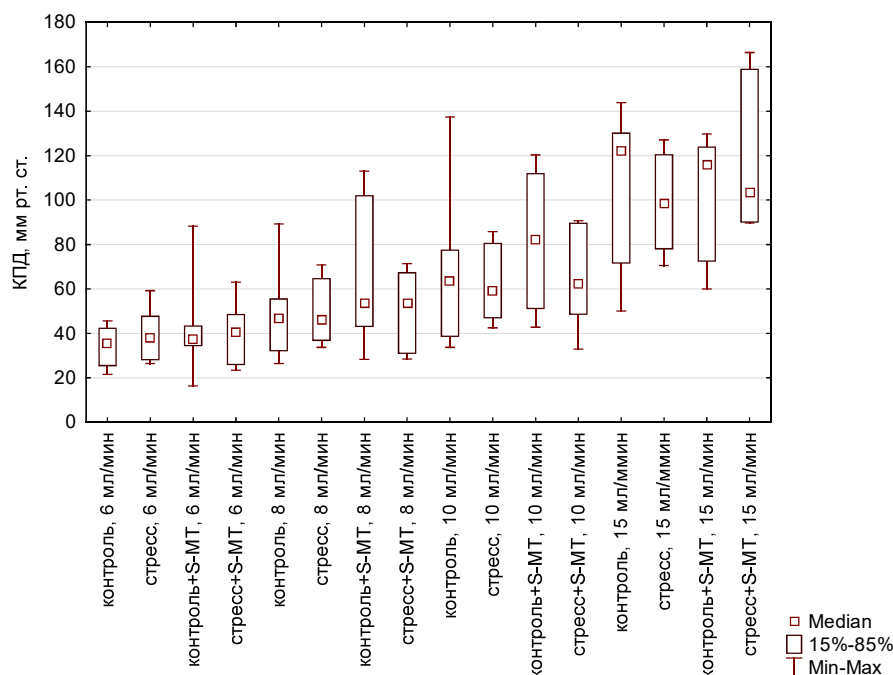


Рисунок 2б – Влияние ингибитора NO-синтазы S-MT на величины КПД, зарегистрированные в изолированных сердцах потомства-самок, мм рт. ст.

тонуса сосудов сердца и его сократительной активности у половозрелого потомства крыс, перенесших действие стрессоров во время беременности, в перфузионный раствор добавляли селективный

ингибитор iNOS S-метилизотиомочевину. В этих условиях в сердцах контрольного потомства как самцов, так и самок все изучаемые показатели (КПД, РВД а также dLVPdp max и dLVPdp min)

не изменялись при всех уровнях ОСКП, по сравнению с показателями, зарегистрированными в сердцах группы «потомство-контроль» соответствующего пола с интактной iNOS (рис. 16, 26, табл. 1, 2). Следовательно, в клетках коронарных сосудов и миокарда изолированных сердец контрольного потомства индуцибельная NO-синтаза не была активирована.

Ингибирование iNOS в сердцах самцов группы «потомство-стресс» привело к повышению КПД таким образом, что при ОСКП 8, 10 и 15 мл/мин. этот показатель статистически не отличался от значений КПД в сердцах самцов группы «потомство-контроль» с интактной NO-синтазой, а при ОСКП 6 мл/мин. даже превышал соответствующую величину на 15,7%. Эти данные свидетельствуют о важном вкладе избыточной продукции NO индуцибельной NO-синтазой в механизмы снижения базального тонуса сосудов сердца у самцов, матери которых подвергались действию стрессоров во время беременности. В то же время, сниженные величины РВД, зарегистрированные в сердцах самцов группы «потомство-стресс» под влиянием S-MT не восстанавливались, так же, как и не возрастала сниженная скорость сокращения и расслабления миокарда (табл. 1). Следовательно, гиперпродукция NO iNOS в миокарде не была причиной нарушения сократительной функции миокарда у самцов, перенесших действие стрессоров в пренатальном периоде.

В сердцах самок группы «потомство-стресс» ингибирование iNOS не сопровождалось статистически значимым увеличением КПД при всех уровнях ОСКП (рис. 26). Под влиянием S-MT в сердцах самок, матери которых подвергались действию стрессоров во время беременности, не происходило восстановления сниженного РВД, а скорость сокращения и расслабления миокарда существенно не изменялась и не отличалась от таковой, зарегистрированной в сердцах крыс-самок, перенесших действие пренатального стресса, с интактной iNOS. Следовательно, избыточного образования оксида азота индуцибельной NO-синтазой в коронарных сосудах и миокарде самок, перенесших пренатальный стресс, не было.

Обсуждение

Изменение продукции оксида азота различными изоформами NO-синтазы является одним из

проявлений дисфункции эндотелия кровеносных сосудов [8], которая может программироваться ещё в пренатальном периоде [9]. Исследований, в ходе которых изучалась эндотелийзависимая вазодилатация кровеносных сосудов потомства, перенесшего пренатальный стресс, сравнительно немного, причем в качестве объекта чаще всего использовалась мезентериальная артерия, но не коронарные артерии. Например, показано, что 3-кратное введение беременным крысам липополисахарида приводит к снижению выраженности расслабления колец мезентериальных артерий, выделенных из организмов их половозрелого потомства, в ответ на ацетилхолин и нитропруссид, причем в клетках мезентериальной артерии уменьшается экспрессия эндотелиоцитарной NO-синтазы (eNOS) и растворимой гуанилатциклазы [10]. Снижение экспрессии eNOS в мезентериальной артерии потомства обнаружено также после белкового голодания беременных крыс [11]. Комбинированный стресс (в виде 3-кратной в течение дня иммобилизации крыс в пластиковых пеналах по 30 мин. с 15-й по 21-й дни беременности при ярком освещении) приводит к повышению сократительного ответа изолированных из организма половозрелого потомства мезентериальных артерий на нейропептид Y и на электрическую стимуляцию [12], что создает предпосылки для развития спазма этих артерий у потомства, перенесшего пренатальный стресс, при развитии стрессовых ситуаций в постнатальной жизни.

Нами получены данные, указывающие на развитие дисфункции эндотелия коронарных сосудов у половозрелого потомства крыс, перенесших «хронический непредсказуемый стресс» во время беременности, причем проявления этой дисфункции имеют специфический характер у потомства-самцов и самок. Поскольку как L-NAME, так и S-MT значительно повышали сниженные значения КПД в изолированных сердцах 3-месячных самцов, перенесших пренатальный стресс, можно полагать, что важной причиной снижения миогенного тонуса коронарных сосудов самцов в этих условиях была гиперпродукция NO эндотелиоцитарной, но, главным образом – индуцибельной NO-синтазой. Кстати, в клетках микроглии крыс, перенесших пренатальный стресс, отмечается стимуляция этого фермента [13]. Повышение активности iNOS в коронарных сосудах способствует не только нарушению механизмов регуляции тонуса сосудов

сердца, но также способствует развитию атеросклероза [14], поэтому обнаруженный нами факт может рассматриваться в качестве важного механизма, объясняющего программирование заболеваний сердечно-сосудистой системы у организмов, перенесших пренатальный стресс. В сердцах потомства-самок, перенесших пренатальный стресс, снижения базального тонуса коронарных сосудов выявлено не было. Введение L-NAME вызывало незначительный коронароконстрикторный эффект (даже меньший, чем в контроле), а S-MT вообще не приводил к статистически значимым изменениям КПД. Эти данные являются косвенным подтверждением «скрытого» дефицита оксида азота, вырабатываемого эндотелиоцитарной NO-синтазой коронарных сосудов самок, перенесших пренатальный стресс. Гипотетически, этот факт можно объяснить действием нескольких механизмов или их сочетанием: (1) нарушением образования оксида азота эндотелиоцитарной NO-синтазой в результате снижения экспрессии eNOS, нарушения ее компартиментализации в кавеолах или снижения активности этого фермента вследствие дефицита субстратов и/или кофакторов NO-синтазной реакции; (2) разобщением eNOS с образованием этим ферментом супероксидного радикала или пероксинитрита; (3) снижением активности гуанилатциклазы или нарушением цГМФ-независимых механизмов действия NO; (4) уменьшением биодоступности оксида азота из-за его инактивации активными формами кислорода; (5) изменениями «молекулярных мишеней» для NO. Кроме того, нельзя исключить возможности поддержания адекватного базального тонуса сосудов сердца у самок, матери которых перенесли действие стрессоров во время беременности, другими альтернативными механизмами (повышенным образованием и действием фактора гиперполяризации, простагличина, изменением образования и действия эндотелина-1, изменением образования и действия метаболитов в сокращающемся миокарде, модификацией работы ионных каналов, изменением структурных свойств коронарных артерий и др.). Сходные данные, указывающие на возможное изменение активности eNOS в коронарных артериях половозрелых крыс-самок, матерям которых во время беременности вводили кокаин, были получены D. Xiao и соавторами [15]. Однако наши предположения требуют проведения дальнейших исследований.

Отсутствие увеличения сниженных по-

казателей сократительной функции миокарда в изолированных сердцах самок и самцов, перенесших пренатальный стресс, в условиях ингибирования eNOS и iNOS свидетельствует о том, что гиперпродукция оксида азота в миокарде не была основной причиной снижения сократительной функции миокарда у этих экспериментальных животных.

Заключение

Результаты исследования, выполненного нами, позволяют сделать следующие выводы:

1. Характер образования оксида азота эндотелиоцитарной и индуцибельной NO-синтазой в коронарных сосудах половозрелых самок и самцов, матери которых перенесли хронический стресс во время беременности, существенно отличается.

2. Гиперпродукция оксида азота является важной причиной снижения базального тонуса сосудов изолированных сердец 3-месячных самцов, матери которых подвергались действию стрессоров во время беременности.

3. Избыточное образование NO в миокарде крыс, перенесших пренатальный стресс, не является основной причиной снижения сократительной функции сердца у этих животных.

Исследование выполнено в рамках задания темы ГПНИ Республики Беларусь 2.29 на 2016-2017 гг. «Оценить отдаленные последствия пренатального стресса на тонус коронарных сосудов и обоснование способов предупреждения выявленных нарушений».

Литература

1. Effect of in utero and early-life conditions on adult health and disease / P. D. Gluckman [et al.] // N. Engl. J. Med. – 2008 Jul. – Vol. 359, N 1. – P. 61–73.
2. Prenatal exposure to maternal stress following bereavement and cardiovascular disease: A nationwide population-based and sibling-matched cohort study / O. Plana-Ripoll [et al.] // Eur. J. Prevent. Cardiol. – 2016 Jul. – Vol. 23, N 10. – P. 1018–1028.
3. Половые особенности нарушений тонуса сосудов сердца и его сократительной активности у потомства крыс, перенесших хронический стресс во время беременности / Л. Е. Беляева [и др.] // Вестн. ВГМУ. – 2016. – Т. 15, № 5. – С. 44–51.
4. Endothelial regulation of coronary microvascular tone under physiological and pathophysiological conditions / W. M. Chilian [et al.] // Eur. Heart. J. – 1993 Nov. – N 14, suppl. I. – P. 55–59.

5. Fleming, I. Paracrine functions of the coronary vascular endothelium / I. Fleming, J. Bauersachs, R. Busse // *Mol. Cell. Biochem.* – 1996 Apr. – Vol. 157, N 1/2. – P. 137–145.
6. Feigl, O. Coronary physiology / O. Feigl // *Physiol. Rev.* – 1983 Jan. – Vol. 63, N 1. – P. 1–205.
7. The inhibitory potency and selectivity of arginine substrate site nitric-oxide synthase inhibitors is solely determined by their affinity toward the different isoenzymes / R. Boer [et al.] // *Mol. Pharmacol.* – 2000 Nov. – Vol. 58, N 5. – P. 1026–1034.
8. Endothelial dysfunction in coronary artery disease / T. F. Lüscher [et al.] // *Annu. Rev. Med.* – 1993. – Vol. 44. – P. 395–418.
9. Louey, S. The prenatal environment and later cardiovascular disease / S. Louey, K. L. Thornburg // *Early. Hum. Dev.* – 2005 Sep. – Vol. 81, N 9. – P. 745–751.
10. Prenatal lipopolysaccharide exposure causes mesenteric vascular dysfunction through the nitric oxide and cyclic guanosine monophosphate pathway in offspring / X. Wang [et al.] // *Free. Radic. Biol. Med.* – 2015 Sep. – Vol. 86. – P. 322–330.
11. Atorvastatin restores endothelial function in offspring of protein-restricted rats in a cholesterol-independent manner / C. Torrens [et al.] // *Hypertension.* – 2009 Apr. – Vol. 53, N 4. – P. 661–667.
12. Prenatal stress in the rat results in increased blood pressure responsiveness to stress and enhanced arterial reactivity to neuropeptide Y in adulthood / N. Igosheva [et al.] // *J. Physiol.* – 2007 Jul. – Vol. 582, pt. 2. – P. 665–674.
13. Prenatal stress is a vulnerability factor for altered morphology and biological activity of microglia cells / J. Ślusarczyk [et al.] // *Front. Cell. Neurosci.* – 2015 Mar. – Vol. 9. – P. 82.
14. Deficiency of inducible NO synthase reduces advanced but not early atherosclerosis in apolipoprotein E-deficient mice / T. Miyoshi [et al.] // *Life Sci.* – 2006 Jul. – Vol. 79, N 6. – P. 525–531.
15. Xiao, D. Prenatal cocaine exposure causes sex-dependent impairment in the myogenic reactivity of coronary arteries in adult offspring / D. Xiao, S. Yang, L. Zhang // *Hypertension.* – 2009 Nov. – Vol. 54, N 5. – P. 1123–1128.

Поступила 23.02.2017 г.

Принята в печать 04.04.2017 г.

References

1. Gluckman PD, Hanson MA, Cooper C, Thornburg KL. Effect of in utero and early-life conditions on adult health and disease. *N Engl J Med.* 2008 Jul;359(1):61-73. doi: 10.1056/NEJMr0708473.
2. Plana-Ripoll O, Liu X, Momen NC, Parner E, Olsen J, Li J. Prenatal exposure to maternal stress following bereavement and cardiovascular disease: A nationwide population-based and sibling-matched cohort study. *Eur J Prev Cardiol.* 2016 Jul;23(10):1018-28. doi: 10.1177/2047487315585294.
3. Belyaeva LE, Fedchenko AN, Lazuko SS, Ligetskaya IV, Orekhova NI. Sexual disorders of vascular tone of the heart and its contractile activity in offspring of rats with chronic stress during pregnancy. *Vestn VGMU.* 2016;15(5):44-51. (In Russ.)
4. Chilian WM, Kuo L, DeFily DV, Jones CJ, Davis MJ. Endothelial regulation of coronary microvascular tone under physiological and pathophysiological conditions. *Eur Heart J.* 1993 Nov;14 Suppl 1:55-9.
5. Fleming I, Bauersachs J, Busse R. Paracrine functions of the coronary vascular endothelium. *Mol Cell Biochem.* 1996 Apr;157(1-2):137-45.
6. Feigl O. Coronary physiology. *Physiol Rev.* 1983 Jan;63(1):1-205.
7. Boer R, Ulrich WR, Klein T, Mirau B, Haas S, Baur I. The inhibitory potency and selectivity of arginine substrate site nitric-oxide synthase inhibitors is solely determined by their affinity toward the different isoenzymes. *Mol Pharmacol.* 2000 Nov;58(5):1026-34.
8. Lüscher TF, Tanner FC, Tschudi MR, Noll G. Endothelial dysfunction in coronary artery disease. *Annu Rev Med.* 1993;44:395-418. doi: 10.1146/annurev.me.44.020193.002143
9. Louey S, Thornburg KL. The prenatal environment and later cardiovascular disease. *Early Hum Dev.* 2005 Sep;81(9):745-51. doi: 10.1016/j.earlhumdev.2005.07.001
10. Wang X, Wang J, Luo H, Chen C, Pei F, Cai Y, et al. Prenatal lipopolysaccharide exposure causes mesenteric vascular dysfunction through the nitric oxide and cyclic guanosine monophosphate pathway in offspring. *Free Radic Biol Med.* 2015 Sep;86:322-30. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2015.05.040.
11. Torrens C, Kelsall CJ, Hopkins LA, Anthony FW, Curzen NP, Hanson MA. Atorvastatin restores endothelial function in offspring of protein-restricted rats in a cholesterol-independent manner. *Hypertension.* 2009 Apr;53(4):661-7. doi: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.108.122820
12. Igosheva N, Taylor PD, Poston L, Glover V. Prenatal stress in the rat results in increased blood pressure responsiveness to stress and enhanced arterial reactivity to neuropeptide Y in adulthood. *J Physiol.* 2007 Jul;582(Pt 2):665-74. doi: 10.1113/jphysiol.2007.130252
13. Ślusarczyk J, Trojan E, Głombik K, Budziszewska B, Kubera M, Lasoń W, et al. Prenatal stress is a vulnerability factor for altered morphology and biological activity of microglia cells. *Front Cell Neurosci.* 2015 Mar;9:82. doi: 10.3389/fncel.2015.00082
14. Miyoshi T, Li Y, Sih DM, Wang X, Laubach VE, Matsumoto AH, et al. Deficiency of inducible NO synthase reduces advanced but not early atherosclerosis in apolipoprotein E-deficient mice. *Life Sci.* 2006 Jul 4;79(6):525-31. doi: 10.1016/j.lfs.2006.01.043
15. Xiao D, Yang S, Zhang L. Prenatal cocaine exposure causes sex-dependent impairment in the myogenic reactivity of coronary arteries in adult offspring. *Hypertension.* 2009 Nov;54(5):1123-8. doi: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.109.138024

Submitted 23.02.2017

Accepted 04.04.2017

Сведения об авторах:

Беляева Л.Е. – к.м.н., доцент, зав. кафедрой патологической физиологии, Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет;
Федченко А.Н. – м.м.н., преподаватель кафедры патологической физиологии, Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет;
Лазуко С.С. – к.б.н., доцент, зав. кафедрой нормальной физиологии, Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет;
Лигецкая И.В. – м.б.н., ассистент кафедры патологической физиологии, Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет;
Орехова Н.И. – магистрант кафедры патологической физиологии, Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет.

Information about authors:

Belyaeva L.E. – Candidate of Medical Sciences, associate professor, head of the Chair of Pathologic Physiology, Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University;
Fedchenko A.N. – Master of Medical Sciences, teacher of the Chair of Pathologic Physiology, Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University;
Lazuko S.S. – Candidate of Biological Sciences, associate professor, head of the Chair of Normal Physiology, Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University;
Ligetskaya I.V. – Master of Biological Sciences, teacher of the Chair of Pathologic Physiology, Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University;
Orehova N.I. – MSc (Medicine) student of the Chair of Pathologic Physiology, Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University.

Адрес для корреспонденции: Республика Беларусь, 210023, г. Витебск, пр. Фрунзе, 27, Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет, кафедра патологической физиологии. E-mail: lyudm.belyaeva2013@yandex.by – Беляева Людмила Евгеньевна.

Correspondence address: Republic of Belarus, 210023, Vitebsk, 27 Frunze ave., Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University, Chair of Pathologic Physiology. E-mail: lyudm.belyaeva2013@yandex.by – Lyudmila E. Belyaeva.

ВЗАИМОСВЯЗЬ ПОЛИМОРФИЗМА C-592A ГЕНА ИНТЕРЛЕЙКИНА-10 С УРОВНЕМ ИНТЕРЛЕЙКИНА-10 И РИСКОМ РАЗВИТИЯ НЕКЛАПАННОЙ ФИБРИЛЛЯЦИИ ПРЕДСЕРДИЙ

БУБЕШКО Д.А., СНЕЖИЦКИЙ В.А., СТЕПУРО Т.Л.

Гродненский государственный медицинский университет, г. Гродно, Республика Беларусь

Вестник ВГМУ. – 2017. – Том 16, №2. – С. 70-78.

THE RELATIONSHIP OF INTERLEUKIN-10 GENE POLYMORPHISM C-592A WITH INTERLEUKIN-10 LEVEL AND THE RISK OF NONVALVULAR ATRIAL FIBRILLATION DEVELOPMENT

BUBESHKA D.A., SNEZHITSKIY V.A., STEPURO T.L.

Grodno State Medical University, Grodno, Republic of Belarus

Vestnik VGMU. 2017;16(2):70-78.

Резюме.

Цель исследования – изучить распределение частот аллелей и генотипов полиморфного маркера C-592A гена интерлейкина-10 (ИЛ-10) и оценить взаимосвязь указанного полиморфизма с уровнем ИЛ-10 у пациентов Гродненского региона с неклапанной фибрилляцией предсердий (ФП) на фоне ишемической болезни сердца (ИБС) и/или артериальной гипертензии (АГ), с ИБС и/или АГ без анамнеза ФП и у пациентов без сердечно-сосудистых заболеваний.

Материал и методы. Обследовано 105 пациентов с ИБС и/или АГ. Среди них: 74 пациента с фибрилляцией предсердий (ФП) и 31 пациент без эпизодов ФП в анамнезе. В группу контроля вошли 37 пациентов без сердечно-сосудистых заболеваний и ФП. Уровень ИЛ-10 в плазме крови оценивали методом иммуноферментного анализа. Выявление полиморфизма C-592A гена ИЛ-10 проводили с помощью полимеразной цепной реакции.

Результаты. Выявлено, что в группе пациентов с фибрилляцией предсердий частота встречаемости генотипа АА и аллели А была достоверно выше, чем у пациентов с ИБС и/или АГ без ФП и по сравнению с группой пациентов без сердечно-сосудистой патологии. Ассоциация нуклеотидного полиморфизма с уровнем ИЛ-10 плазмы выявлена только у пациентов с ФП и систолической дисфункцией левого желудочка. При этом максимальный уровень ИЛ-10 наблюдался у пациентов с генотипом СС/СА и аллелью С.

Заключение. Присутствие в генотипе аллели А ассоциировано с повышением риска развития неклапанной ФП в 1,34 раза (95% ДИ 1,14-1,56), в то время как наличие генотипа АА увеличивает вероятность развития указанной патологии в 1,48 раза (95% ДИ 1,3-1,71) у пациентов с ИБС и/или АГ.

Ключевые слова: фибрилляция предсердий, интерлейкин-10, полиморфизм C-592A.

Abstract.

Objectives. To study the distribution of genotypes and alleles frequencies of the polymorphic marker C-592A of interleukin-10 (IL-10) gene and to evaluate the relationship of the mentioned polymorphism with IL-10 plasma levels in patients of Grodno region with nonvalvular atrial fibrillation (AF) with ischemic heart disease (IHD) and/or arterial hypertension (AH), with ischemic heart disease and/or AH without the history of AF episodes and in patients without any cardiovascular diseases.

Material and methods. 105 patients with ischemic heart disease and/or arterial hypertension were examined. Among them there were 74 patients with persistent and permanent atrial fibrillation and 31 patients without AF episodes in their history. The control group included 37 patients without cardiovascular diseases and AF. IL-10 blood plasma levels were evaluated by ELISA test. The identification of polymorphism C-592A of IL-10 gene was performed using the polymerase chain reaction.

Results. It has been revealed that in the group of patients with AF the frequency of AA genotype and A allele was

significantly higher than that in the group of patients with ischemic heart disease and/or arterial hypertension without AF episodes in their history and also than that in the group of patients without any cardiovascular pathology. Nucleotide polymorphism association with the IL-10 level in plasma was revealed only in patients with AF and left ventricular systolic dysfunction. The maximum level of IL-10 was observed in patients with CC/CA genotype and C allele.

Conclusions. The presence of A allele in the genotype is associated with the 1,34-fold increase of nonvalvular AF development risk (95% CI 1,14-1,56), while the presence of AA genotype 1,48 times increases the risk of this disease development (95% CI 1,3-1,71) in patients with ischemic heart disease and/or arterial hypertension.

Key words: atrial fibrillation, interleukin -10, polymorphism C-592A.

Фибрилляция предсердий является наиболее распространённой аритмией в клинической практике. Она встречается у 1-2% населения в возрасте до 50 лет, у 6% населения в возрасте старше 80 лет. Мужчины чаще болеют, чем женщины. Риск развития ФП в течение жизни для тех, кто достиг возраста 40 лет, составляет 25%. ФП связана с увеличением риска смерти, инсульта и других тромбоэмболических событий, развитием сердечной недостаточности, ухудшением качества жизни, снижением когнитивной функции и депрессивными расстройствами. Фибрилляция предсердий независимо связана с двукратным повышением риска смертности от всех причин у женщин и 1,5-кратным увеличением у мужчин [1]. Около 10-40% пациентов с ФП нуждаются в ежегодной госпитализации, что составляет до 1/3 всех поступивших по причине нарушений ритма. Поэтому большое внимание уделяется исследованиям, направленным на изучение факторов риска и патогенетических механизмов развития ФП.

Воспалительная теория аритмогенеза нашла свое подтверждение в ряде клинических и экспериментальных исследований [2]. Повышение уровня СРБ и интерлейкина-6 (ИЛ-6) не только связано с наличием ФП, но и предсказывает высокий риск заболеваемости ФП в будущем [3, 4]. В то же время, не совсем понятно, какую роль в развитии ФП и ее неблагоприятных исходов играет основной противовоспалительный цитокин ИЛ-10.

ИЛ-10 был описан в 1989 году как ингибитор активности Т-хелперов 1-го типа. Указанный фактор является иммунорегуляторным цитокином, секреция которого осуществляется Т-хелперами 2-го типа и моноцитами. Основное биологическое действие ИЛ-10 направлено на подавление синтеза провоспалительных цитокинов, усиление пролиферации В-лимфоцитов и синтез иммуноглобулинов [5]. Соответственно, увеличение продукции ИЛ-10, должно способствовать более эффективному контролю воспа-

лительных реакций и уменьшать риск развития заболеваний, в основе которых лежат процессы воспаления.

Однако в работах, посвященных изучению ИЛ-10 как прогностического маркера у пациентов с сердечно-сосудистой патологией, получены неоднозначные результаты. В одних исследованиях продемонстрировано, что более высокие уровни ИЛ-10 в сыворотке крови связаны с лучшими клиническими результатами с точки зрения кардиоваскулярной заболеваемости и смертности среди пациентов с острым коронарным синдромом (ОКС) [6], а также среди пациентов с ХСН [7]. В других – высокий базовый уровень ИЛ-10 у пациентов с ОКС [8] и у пациентов с ХСН [9] был предиктором неблагоприятных кардиоваскулярных исходов.

Влияние генетического фактора на уровень экспрессии цитокинов, в том числе и ИЛ-10, находится в стадии активного изучения [10-13]. В одном исследовании, проведенном на близнецах, было определено, что на 50% продукция ИЛ-10 является генетически детерминированной [14]. Ген, кодирующий ИЛ-10 расположен в области q31-q32 1-ой хромосомы. Наиболее подробно описаны три полиморфизма промоторной области гена ИЛ-10: -1082 G/A (rs1800896), -592 C/A (rs1800872) и -819 C/T (rs1800871). Эти три полиморфизма наследуются сцеплено и в большей степени на продукцию ИЛ-10 влияет C-592A [15].

Учитывая тот факт, что частота встречаемости генотипов и аллелей зависит от этнической принадлежности населения, исследование полиморфизма C-592A гена ИЛ-10 в популяции жителей Гродненского региона является целесообразным, т.к. обладает высоким уровнем новизны, а также научной и практической ценности.

Цель исследования – изучить распределение частот аллелей и генотипов полиморфного маркера C-592A гена ИЛ-10 и оценить взаимосвязь указанного полиморфизма с уровнем ИЛ-10 у пациентов Гродненского региона с неклапанной

ФП на фоне ишемической болезни сердца (ИБС) и/или артериальной гипертензии (АГ), с ИБС и/или АГ без анамнеза ФП и у практически здоровых лиц.

Материал и методы

На базе УЗ «Гродненский областной клинический кардиологический центр» были обследованы 74 пациента (60 мужчин, 81,1%; средний возраст 59 (54;65)) с персистирующей и постоянной формами ФП на фоне ИБС и/или АГ, которые в зависимости от значения фракции выброса (ФВ) левого желудочка были разделены на 2 группы. Группа 1 - 31 пациент с ФВ <50% (25 мужчин, 80,6%; средний возраст 59 (50;63)). Группа 2 – 43 пациента с ФВ ≥50%. (35 мужчин, 81,4%; средний возраст 61 (55;65)). В группу 3 включен 31 пациент с ИБС и/или АГ без эпизодов ФП в анамнезе (22 мужчины, 71%; средний возраст 57 (50;61)). Группа 4 была сформирована на базе УЗ «Поликлиника УВД г. Гродно», которую составили 37 пациентов без сердечно-сосудистых заболеваний (21 мужчина, 56,8%; средний возраст 53 (52;56)). Пациенты группы 3 и группы 4 были несколько моложе пациентов группы 2, но при этом не имели различий по возрасту между собой и с пациентами группы 1.

В исследование не включались пациенты с пароксизмальной формой ФП, ФП на фоне органических клапанных пороков сердца, острым или перенесенным инфарктом миокарда, миокардитом, тиреотоксикозом, острым нарушением мозгового кровообращения, острыми воспалительными процессами любой локализации, предположительной связи между наличием ФП и алкогольными эксцессами.

Методом иммуноферментного анализа в плазме венозной крови определялся уровень интерлейкина-10 (ИЛ-10). Порядок приготовления проб, реагентов и схему опыта выполняли согласно инструкции изготовителя тест-систем («Вектор-Бест», Россия). Генетические методы исследования включали в себя определение полиморфизма гена ИЛ-10 с помощью метода полимеразной цепной реакции (ПЦР). Выделение геномной ДНК человека проводилось набором реагентов «ДНК-Экстран-1» («Синтол», РФ), предназначенным для выделения геномной ДНК из лейкоцитов крови. Последующий анализ полиморфизма гена ИЛ-10 rs1800872 C-592A в выделенной ДНК выполняли методом ПЦР в ре-

жиме реального времени с применением набора реагентов производства «Синтол», РФ. Амплификация ДНК проведена на амплификаторе Rotor Gene-Q («Qiagen», Германия).

Для статистического анализа данных использовался пакет прикладных программ Microsoft Excel и STATISTICA 10.0 для Windows (StatSoft, Inc., США). На первоначальном этапе с помощью онлайн-калькулятора был проведен расчет соответствия распределения аллелей и генотипов в выборке равновесию Харди-Вайнберга. Полученное при этом значение $p > 0,05$ говорит о выполнении условий данного равновесия и дает возможность интерпретировать результаты, полученные при обследовании данной выборки. Сравнительный анализ частот генотипов и аллелей у разных групп пациентов осуществлялся с помощью точного критерия Фишера. Количественные данные, распределение которых не являлось нормальным, приводились в виде медианы, 25% и 75% квартилей. Для оценки различий количественных признаков между двумя независимыми группами использовался критерий Мана-Уитни. Различия считались достоверными при значении $p < 0,05$.

Результаты

Анализ распределения частот генотипов по полиморфизму C-592A гена ИЛ-10 показал, что из общей выборки в 62% случаев встречался генотип CC и в 77,5%- аллель C (табл. 1). Различий в частоте встречаемости генотипов между пациентами мужского и женского пола выявлено не было.

Для начала мы изучили частоту распределения генотипов и аллелей указанного маркера среди пациентов с ФП (табл. 2, 3).

В связи с тем, что статистически значимых межгрупповых различий по распределению генотипов и аллелей получено не было, для дальнейшего анализа мы рассматривали данных пациентов как «группу пациентов с ФП».

При изучении частоты распределения генотипов среди пациентов каждой из групп, в зависимости от нозологии, было установлено, что у лиц группы с ФП достоверно чаще встречался генотип AA по сравнению с пациентами группы 3 и группы 4, у которых данного генотипа выявлено не было. В группе 3 и группе 4 чаще встречался генотип CC (в 77,4% и 70,3%, соответственно) по сравнению с пациентами группы с ФП (51,4%)

Таблица 1 – Распределение генотипов и аллелей полиморфного варианта С-592А гена ИЛ-10 (абс./%)

Показатель	Частота (абс./%)	
	абс.	%
Генотип (n=142)		
СС	88	62
СА	44	31
АА	10	7
Аллель (n=284)		
С	220	77,5
А	64	22,5

Таблица 2 – Частота встречаемости генотипов полиморфного варианта С-592А гена ИЛ-10 у пациентов с фибрилляцией предсердий в зависимости от уровня фракции выброса левого желудочка (абс./%)

Генотип	Частота (абс./%)				p 1-2
	Группа 1, ФВ <50%		Группа 2, ФВ ≥50%		
	абс.	%	абс.	%	
СС	17	54,8	21	48,8	нд
СА	9	29,1	17	39,6	нд
АА	5	16,1	5	11,6	нд
Всего	31	100,0	43	100,0	

Примечание: нд – недостоверные межгрупповые отличия.

Таблица 3 – Частота встречаемости аллелей С/А полиморфного маркера (rs1800872) гена ИЛ-10 у пациентов с фибрилляцией предсердий в зависимости от уровня фракции выброса левого желудочка (абс./%)

Аллель	Частота (абс./%)				p 1 и 2
	Группа 1, ФВ <50%		Группа 2, ФВ ≥50%		
	абс.	%	абс.	%	
С	43	69,4	59	68,6	нд
А	19	30,6	27	31,4	нд
Всего	62	100,0	86	100,0	

Примечание: нд – недостоверные межгрупповые отличия.

Таблица 4 – Частота встречаемости генотипов полиморфного варианта С-592А гена ИЛ-10 в зависимости от нозологической формы (абс./%)

Генотип	Частота (абс./%)		
	ФП на фоне ИБС и/или АГ (группа 1+ группа 2)	ИБС и/или АГ без ФП (группа 3)	Относительно здоровые (группа 4)
СС	38 (51,4%)*#	24 (77,4%)	26 (70,3%)
СА	26 (35,1%)	7 (22,6%)	11 (29,7%)
АА	10 (13,5%)*#	0	0
Всего	74 (100%)	31 (100%)	37 (100%)

Примечание: * – различия по сравнению с группой 3; # – различия по сравнению с группой 4.

($p < 0,05$). При этом различия в распределении частот генотипов и аллелей между пациентами группы 3 и группы 4 получено не было (табл. 4). При

анализе распределения аллелей по данному полиморфному варианту гена ИЛ-10 установили, что в группе пациентов с ФП достоверно чаще

встречалась аллель А по сравнению с пациентами группы 3 и группы 4 ($p<0,05$) (табл. 5).

При оценке относительного риска (RR) развития неклапанной ФП у пациентов с ИБС и/или АГ в зависимости от полиморфного варианта гена ИЛ-10 были получены следующие результаты. Присутствие аллели С в генотипе связано со снижением риска развития ФП у пациентов с ИБС и/или АГ ($RR=0,78$; 95% ДИ 0,68-0,89). Аналогичную зависимость получили для генотипа СС ($RR=0,73$; 95% ДИ 0,58-0,93). В то же время у пациентов, оказавшихся носителями аллели А и генотипа АА риск развития неклапанной фибрилляции предсердий возрастает в 1,34 раза (95% ДИ 1,14-1,56) и в 1,48 раз (95% ДИ 1,3-1,71), соответственно.

При определении в плазме уровня ИЛ-10 пациенты группы 1 характеризовались более высокими значениями по сравнению с пациентами

группы 2 и группы 3 (6,98 пг/мл против 4,29 пг/мл и 4,32 пг/мл соответственно, $p<0,01$). При этом статистически значимых отличий в уровне ИЛ-10 между пациентами группы 2 и группы 3 получено не было. Данные представлены на рисунке 1.

С целью изучения зависимости уровня ИЛ-10 от генотипа, пациенты были разделены на 3 подгруппы: подгруппа А – пациенты с генотипом СС, подгруппа Б – пациенты с генотипом СА, подгруппа В – пациенты с генотипом АА. Оценка влияния генотипа на уровень ИЛ-10 проводилась отдельно в каждой группе пациентов.

Для пациентов группы 1 (с ФП и сниженной ФВ) наблюдалось достоверное повышение уровня ИЛ-10 у носителей генотипа СС (6,98 (6,25;8,59) пг/мл) и генотипа СА (8,21 (7,9;11,1) пг/мл) по сравнению с пациентами, имеющими генотип АА (4,27 (3,45;4,61) пг/мл) ($p<0,05$). При

Таблица 5 – Частота встречаемости аллелей С/А полиморфного маркера (rs1800872) гена ИЛ-10 в зависимости от нозологической формы (абс./%)

Аллель	Частота (абс./%)		
	ФП на фоне ИБС и/или АГ (группа 1+ группа 2)	ИБС и/или АГ без ФП (группа 3)	Относительно здоровые (группа 4)
С	102 (68,9%)*#	55 (88,7%)	63 (85,1%)
А	46 (31,1%)*#	7 (11,3%)	11 (14,9%)
Всего	148 (100%)	62 (100%)	74 (100%)

Примечание: * – различия по сравнению с группой 3; # – различия по сравнению с группой 4.

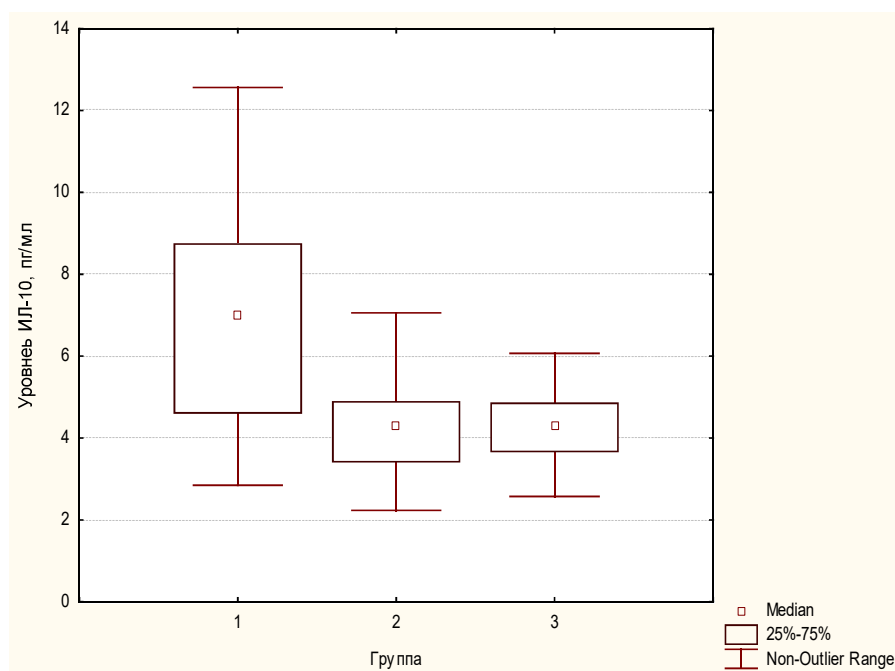


Рисунок 1 – Уровень ИЛ-10 в плазме крови у пациентов исследуемых групп.

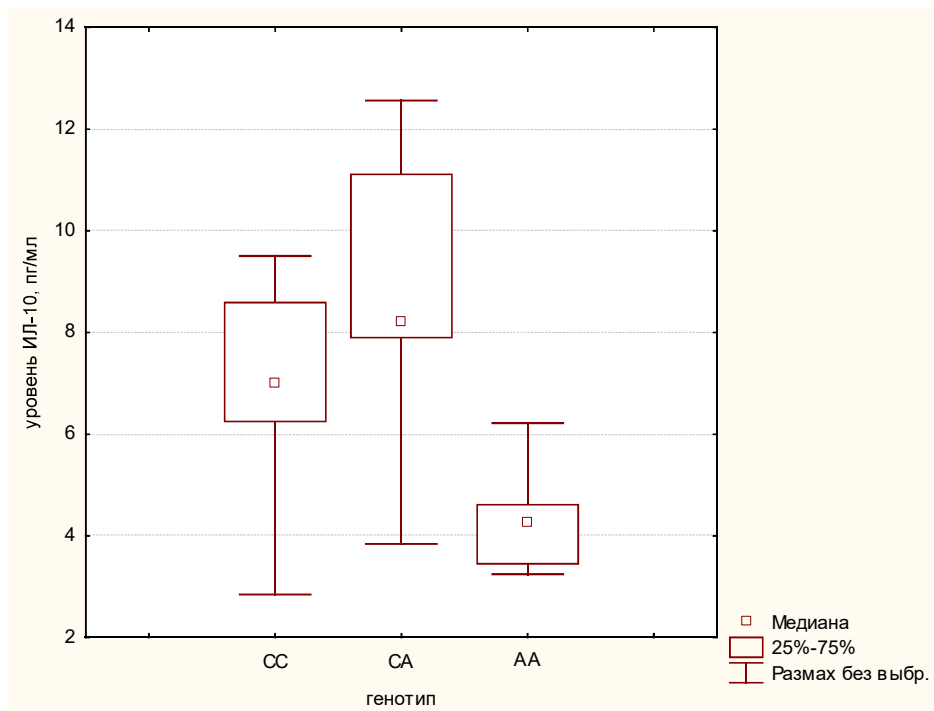


Рисунок 2 – Уровень ИЛ-10 у пациентов группы 1 в зависимости от генотипа.

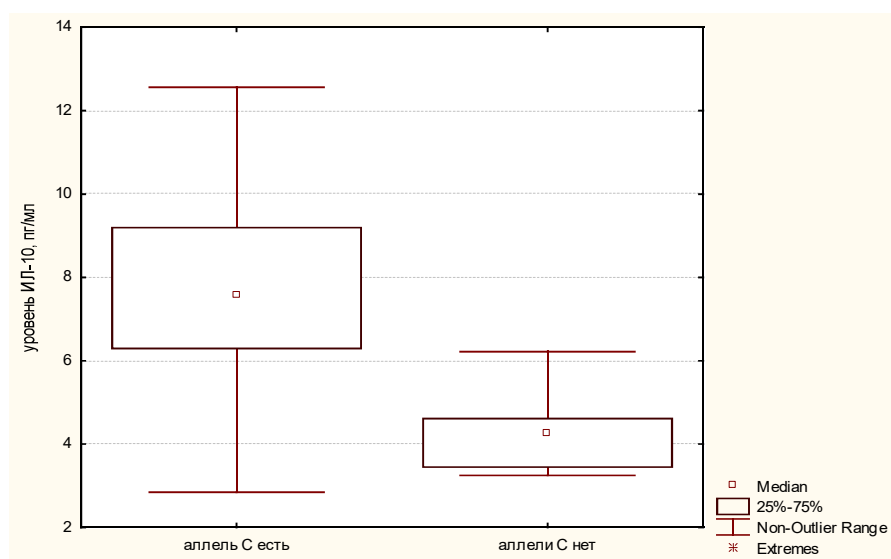


Рисунок 3 – Уровень ИЛ-10 у пациентов группы 1 в зависимости от наличия аллели С.

этом статистически значимых различий между пациентами с генотипом CC и CA не наблюдалось. Данные представлены на рисунке 2.

Дальнейший анализ взаимосвязи аллелей с уровнем ИЛ-10 у пациентов группы 1 позволил установить, что присутствие в генотипе аллели С ассоциировано с повышением уровня ИЛ-10. Медиана уровня ИЛ-10 у пациентов, имеющих аллель С в генотипе, составила 7,55 пг/мл (6,29; 9,2) против 4,27 пг/мл (3,45; 4,61) у пациентов

без аллели С ($p < 0,01$). Данные представлены на рисунке 3.

У пациентов группы 2 и группы 3 уровень ИЛ-10 не отличался у пациентов с разными генотипами (табл. 6).

Обсуждение

Анализ полиморфного маркера С-592А гена ИЛ-10 у пациентов Гродненского региона

Таблица 6 – Сравнительная характеристика уровня ИЛ-10 в зависимости от генотипа у пациентов группы 2 и группы 3

		Генотип			Р
		СС	СА	АА	
ИЛ-10, пг/мл	Группа 2 (n=43)	3,99 (3,33; 4,67)	4,47 (4,11; 7,29)	4,25 (3,69; 4,26)	нд
	Группа 3 (n=31)	4,11 (3,56; 4,51)	4,26 (3,51; 4,88)	-	нд

Примечание: нд – недостоверные межгрупповые отличия.

показал, что пациенты с ФП и без данной аритмии имеют различия в распределении аллелей и генотипов. Полученные результаты свидетельствуют о наличии прямой связи между носительством аллели А и генотипа АА и вероятностью развития ФП как у пациентов с ИБС и/или АГ, так и у пациентов без сердечно-сосудистых заболеваний.

Похожие данные были получены у пациентов китайской популяции. Частота аллели А была увеличена у пациентов с ФП и встречалась у 83,3% пациентов по сравнению с 72,5% группы контроля ($p=0,0063$). Носители генотипа АА имели 2,08-кратное (95% ДИ 1.19-3.66) увеличение риска развития ФП по сравнению с носителями генотипа СС [13]. У пациентов японской популяции присутствие в генотипе аллели С было ассоциировано со снижением риска развития ФП [16].

В ряде работ было продемонстрировано, что полиморфизм С-592А гена ИЛ-10 связан с циркулирующим уровнем ИЛ-10 у пациентов на фоне различной патологии. Однако степень этой взаимосвязи неоднозначна, в одном исследовании носители генотипа АА характеризовались более высокой концентрацией ИЛ-10 по сравнению с носителями генотипа СА и СС [10]. В других работах получены противоположные результаты: уровень ИЛ-10 был выше у пациентов с генотипом СС и СА, чем у пациентов с генотипом АА [11-13]. Такая неоднородность полученных результатов может объясняться тем, что продукция ИЛ-10 не только генетически детерминирована, но и подвержена регуляторному влиянию как со стороны других генов, так и средовых факторов.

В нашем исследовании уровень ИЛ-10 был связан с генотипом только в группе пациентов с фибрилляцией предсердий и систолической дисфункцией левого желудочка. Наиболее высокие значения отмечены у носителей генотипа СА и СС. К тому же данная группа пациентов имела самые высокие значения цитокина среди всех обследуемых. Учитывая тот факт, что высокий

уровень ИЛ-10 может быть предиктором неблагоприятного прогноза у пациентов с кардиоваскулярной патологией, изучение полиморфизма С-592А гена ИЛ-10 может быть полезно не только у пациентов с ФП, но и у пациентов с хронической сердечной недостаточностью.

Заключение

1. Группа пациентов с ИБС и/или АГ без эпизодов ФП в анамнезе по частоте встречаемости генотипов и аллелей полиморфного маркера С-592А гена ИЛ-10 не имела различий при сравнении с группой лиц без сердечно-сосудистых заболеваний.

2. В группе пациентов с фибрилляцией предсердий частота встречаемости генотипа АА и аллели А достоверно выше, чем у пациентов с ИБС и/или АГ без эпизодов ФП в анамнезе. При этом риск развития неклапанной ФП у пациентов с ИБС и/или АГ при наличии аллели А повышен в 1,34 раза, а при наличии генотипа АА – в 1,48 раза.

3. Пациенты с ФП и сниженной фракцией выброса ЛЖ не отличались по распределению генотипов и аллелей от пациентов с ФП и нормальным значением фракции выброса ЛЖ, но имели отличия в уровне ИЛ-10 в зависимости от генотипа. В группе пациентов с ФП и сниженной ФВ ЛЖ максимальный уровень ИЛ-10 ассоциирован с генотипами СС/СА и носительством аллели С.

Литература

1. 50 year trends in atrial fibrillation prevalence, incidence, risk factors, and mortality in the Framingham Heart Study: a cohort study / R. B. Schnabel [et al.] // Lancet. – 2015 Jul. – Vol. 386, N 9989. – P. 154–162.
2. Снежицкий, В. А. Роль воспаления в патогенезе фибрилляции предсердий / В. А. Снежицкий, Д. А. Бубешко // Кардиология в Беларуси. – 2015. – Т. 41, № 4. – С. 129–138.
3. Does elevated C-reactive protein increase atrial fibrillation risk? A Mendelian randomization of 47,000 individuals

- from the general population / S. C. Marott [et al.] // J. Am. Coll. Cardiol. – 2010 Aug. – Vol. 56, N 10. – P. 789–795.
4. Prognostic significance of raised plasma levels of interleukin-6 and C-reactive protein in atrial fibrillation / D. S. Conway [et al.] // Am. Heart. J. – 2004 Sep. – Vol. 148, N 3. – P. 462–466.
 5. Itoh, K. The role of IL-10 in human B cell activation, proliferation and differentiation / K. Itoh, S. Hirohata // J. Immunol. – 1995 May. – Vol. 154, N 9. – P. 4341–4350.
 6. Serum level of the antiinflammatory cytokine interleukin-10 is an important prognostic determinant in patients with acute coronary syndromes / C. Heeschen [et al.] // Circulation. – 2003 Apr. – Vol. 107, N 16. – P. 2109–2114.
 7. Pro/Anti-inflammatory cytokine imbalance in postischemic left ventricular remodeling / A. L. Pasqui [et al.] // Mediators Inflamm. – 2010. – Vol. 2010. – P. 974694.
 8. Plasma interleukin-10 levels and adverse outcomes in acute coronary syndrome / E. Cavusoglu [et al.] // Am. J. Med. – 2011 Aug. – Vol. 124, N 8. – P. 724–730.
 9. Circulating interleukin-10: association with higher mortality in systolic heart failure patients with elevated tumor necrosis factor- α / O. Amir [et al.] // Isr. Med. Assoc. J. – 2010 Mar. – Vol. 12, N 3. – P. 158–162.
 10. Связь полиморфизмов локусов g-1082a и c-592a гена IL10 с мультифокальным атеросклерозом у больных с острым коронарным синдромом без подъема сегмента ST / С. А. Бернс [и др.] // Клини. медицина. – 2015. – Т. 93, № 11. – С. 28–34.
 11. Variants of the interleukin-10 promoter gene are associated with obesity and insulin resistance but not type 2 diabetes in caucasian italian subjects / D. Scarpelli [et al.] // Diabetes. – 2006 May. – Vol. 55, N 5. – P. 1529–1533.
 12. Influence of interleukin-10 polymorphisms on interleukin-10 expression and survival in critically ill patients / P. R. Lowe [et al.] // Crit. Care Med. – 2003 Jan. – Vol. 31, N 1. – P. 34–38.
 13. Association of Interleukin-10 promotor polymorphisms with atrial fibrillation in Han Chinese / D. D. Zheng [et al.] // Int. J. Clin. Exp. Med. – 2014. – Vol. 7, N 11. – P. 4199–4206.
 14. Differential regulation of interleukin-10 production by genetic and environmental factors – a twin study / E. Reuss [et al.] // Genes. Immun. – 2002 Nov. – Vol. 3, N 7. – P. 407–413.
 15. Interleukin-10 [ATA] promoter haplotype and prostate cancer risk: a population-based study / T. Eder [et al.] // Eur. J. Cancer. – 2007 Feb. – Vol. 43, N 3. – P. 472–475.
 16. Genetic factors for lone atrial fibrillation / K. Kato [et al.] // Int. J. Mol. Med. – 2007 Jun. – Vol. 19, N 6. – P. 9333–9339.

Поступила 08.02.2017 г.

Принята в печать 04.04.2017 г.

References

1. Schnabel RB, Yin X, Gona P, Larson MG, Beiser AS, McManus DD, et al. 50 year trends in atrial fibrillation prevalence, incidence, risk factors, and mortality in the Framingham Heart Study: a cohort study. Lancet. 2015 Jul;386(9989):154-62. doi: 10.1016/S0140-6736(14)61774-8.
2. Snezhitskiy VA, Bubeshko DA. The role of inflammation in pathogenesis of atrial fibrillation. Kardiologiya Belarusi. 2015;41(4):129-38. (In Russ.)
3. Marott SC, Nordestgaard BG, Zacho J, Friberg J, Jensen GB, Tybjaerg-Hansen A, et al. Does elevated C-reactive protein increase atrial fibrillation risk? A Mendelian randomization of 47,000 individuals from the general population. J Am Coll Cardiol. 2010 Aug;56(10):789-95. doi: 10.1016/j.jacc.2010.02.066.
4. Conway DS, Buggins P, Hughes E, Lip GY. Prognostic significance of raised plasma levels of interleukin-6 and C-reactive protein in atrial fibrillation. Am Heart J. 2004 Sep;148(3):462-6. doi: 10.1016/j.ahj.2004.01.026
5. Itoh K, Hirohata S. The role of IL-10 in human B cell activation, proliferation and differentiation. J Immunol. 1995 May;154(9):4341-50.
6. Heeschen C, Demeter S, Hamm CW, Fichtlscherer S, Boersma E, Simoons ML, et al. Serum level of the antiinflammatory cytokine interleukin-10 is an important prognostic determinant in patients with acute coronary syndromes. Circulation. 2003 Apr;107(16):2109-14. doi: 10.1161/01.CIR.0000065232.57371.25
7. Pasqui AL, Di Renzo M, Maffei S, Pastorelli M, Pompella G, Auteri A, et al. Pro/Anti-inflammatory cytokine imbalance in postischemic left ventricular remodeling. Mediators Inflamm. 2010;2010:974694. doi: 10.1155/2010/974694.
8. Cavusoglu E, Marmur JD, Hojjati MR, Chopra V, Butala M, Subnani R, et al. Plasma interleukin-10 levels and adverse outcomes in acute coronary syndrome. Am J Med. 2011 Aug;124(8):724-30. doi: 10.1016/j.amjmed.2011.02.040
9. Amir O, Rogowski O, David M, Lahat N, Wolff R, Lewis BS. Circulating interleukin-10: association with higher mortality in systolic heart failure patients with elevated tumor necrosis factor- α . Isr Med Assoc J. 2010 Mar;12(3):158-62.
10. Berns SA, Shmidt EA, Makeeva OA, Golikova AA, Ivanova TB, Nagirnyak OA, i dr. The relationship of loci polymorphisms g-1082a and c-592a IL10 gene with multifocal atherosclerosis in patients with acute coronary syndrome without ST-segment elevation. Klin Meditsina. 2015;93(11):28-34. (In Russ.)
11. Scarpelli D, Cardellini M, Andreozzi F, Laratta E, Hribal ML, Marini MA, et al. Variants of the interleukin-10 promoter gene are associated with obesity and insulin resistance but not type 2 diabetes in caucasian italian subjects. Diabetes. 2006 May;55(5):1529-33.
12. Lowe PR, Galley HF, Abdel-Fattah A, Webster NR. Influence of interleukin-10 polymorphisms on interleukin-10 expression and survival in critically ill patients. Crit Care Med. 2003 Jan;31(1):34-8.
13. Zheng DD, Ji SN, Chen C, Deng XT, Su YM, Pan HY, et al. Association of Interleukin-10 promotor polymorphisms with atrial fibrillation in Han Chinese. Int J Clin Exp Med. 2014;7(11):4199-206.
14. Reuses E, Fimmers R, Kruger A, Becker C, Rittner C, Höhler T. Differential regulation of interleukin-10 production by genetic and environmental factors – a twin study. Genes Immun. 2002 Nov;3(7):407-13. doi: 10.1038/

- sj.gene.6363920
15. Eder T, Mayer R, Langsenlehner U, Renner W, Krippel P, Wascher TC, et al. Interleukin-10 [ATA] promoter haplotype and prostate cancer risk: a population-based study. Eur J Cancer. 2007 Feb;43(3):472-5. doi: 10.1016/j.ejca.2006.11.003
16. Kato K, Oguri M, Hibino T, Yajima K, Matsuo H, Segawa T, et al. Genetic factors for lone atrial fibrillation. Int J Mol Med. 2007 Jun;19(6):933-9.

Submitted 08.02.2017

Accepted 04.04.2017

Сведения об авторах:

Бубешко Д.А. – аспирант 1-ой кафедры внутренних болезней, Гродненский государственный медицинский университет;

Снежицкий В.А. – член-корр. НАН Беларуси, ректор, д.м.н., профессор 1-ой кафедры внутренних болезней, Гродненский государственный медицинский университет;

Степура Т.Л. – младший научный сотрудник Научно-исследовательской лаборатории, Гродненский государственный медицинский университет.

Information about authors:

Bubeshka D.A. – postgraduate of the Chair of Internal Medicine No.1, Grodno State Medical University;

Snezhitskiy V.A. – Doctor of Medical Sciences, corresponding member of the Belarusian National Academy of Sciences, rector, professor of the Chair of Internal Medicine No.1, Grodno State Medical University;

Stepuro T.L. – associate research officer of the Scientific-Research Laboratory of the Scientific-Research Department, Grodno State Medical University.

Адрес для корреспонденции: Республика Беларусь, 230009, г. Гродно, ул. Горького, 80, Гродненский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет, 1-я кафедра внутренних болезней. E-mail: bubeshkodarya@gmail.com – Бубешко Дарья Анатольевна.

Correspondence address: Republic of Belarus, 230009, Grodno, 80 Gorky str., Grodno State Medical University, Chair of Internal Medicine No.1. E-mail: bubeshkodarya@gmail.com – Darya A. Bubeshka.

ПРОГНОЗИРОВАНИЕ СЕПСИСА ПРИ ОЖГОВОЙ БОЛЕЗНИ С УЧЕТОМ СПЕЦИФИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ

ЖИЛИНСКИЙ Е.В.^{1,2}

¹Белорусский государственный медицинский университет, г. Минск, Республика Беларусь

²Городская клиническая больница скорой медицинской помощи, г. Минск, Республика Беларусь

Вестник ВГМУ. – 2017. – Том 16, №2. – С. 79-84.

PREDICTION OF SEPSIS IN A BURN DISEASE WITH SPECIFIC INDICES TAKEN INTO ACCOUNT

ZHYLINSKI Y.V.^{1,2}

¹Belarusian State Medical University, Minsk, Republic of Belarus

²Minsk City Clinical Emergency Hospital, Minsk, Republic of Belarus

Vestnik VGMU. 2017;16(2):79-84.

Резюме.

Сепсис является наиболее тяжелым осложнением ожоговой болезни. Выделение групп высокого риска сепсиса позволяет оптимизировать лечение тяжело обожженных пациентов. Существующие прогностические системы для развития сепсиса сложны в применении или недостаточно достоверны. Оптимально создавать прогностические модели на основе клинико-лабораторных показателей, в том числе специфических для ожоговой травмы. Цель – создание прогностической модели развития сепсиса у пациентов с ожоговой болезнью на основе клинико-лабораторных критериев, связанных с патогенезом ожоговой травмы и инфекционных осложнений.

Материал и методы. Проводилось когортное проспективно-ретроспективное исследование тяжело обожженных пациентов с индексом тяжести поражения свыше 30 единиц. Для создания прогностической модели был использован метод бинарной логистической регрессии, проверка модели проводилась при помощи ROC-анализа.

Результаты. Построенная методом бинарной логистической регрессии модель прогнозирования сепсиса у пациентов с ожоговой болезнью, включающая в себя наличие гипохолестеремии, содержания фибриногена и альбумина, долю нейтрофилов и уровень иммуноглобулина G, обладает высокой эффективностью. При ROC-анализе модели площадь под кривой (AUC) составила 0,910, и 0,849 (модель «отличного и очень хорошего качества»). Чувствительность прогностической модели составила 86,4% и 82,5%, специфичность – 82,2% и 81,8%.

Заключение. Данная модель прогнозирования сепсиса при ожоговой болезни, учитывающая наличие гипохолестеремии, уровни фибриногена, альбумина, иммуноглобулина G и долю нейтрофилов, может быть использована для оптимизации лечения тяжело обожженных пациентов при оказании помощи в республиканском и областных ожоговых центрах Республики Беларусь.

Ключевые слова: сепсис, прогнозирование, ожоговая болезнь, гипохолестеремия, иммуноглобулин G.

Abstract.

Sepsis is the most serious complication of a burn disease. The determination of high-risk sepsis groups allows to optimize the treatment of seriously burnt patients. The existing prognostication systems for the sepsis development in severely burnt patients are difficult to use, or they are not sufficiently reliable. Optimally it is necessary to create predictive models based on clinical and laboratory indices, including those that are specific for burn injuries.

Objectives. To create prognostic models of sepsis development in patients with severe burns based on the clinical and laboratory criteria, related to the pathogenesis of burn injuries and infectious complications. Material and methods. The cohort prospective-retrospective study of severely burnt patients with the severity index of more than 30 units was conducted. To create predictive models binary logistic regression method was used, model testing was carried out with ROC-analysis. Results. The area under curve (AUC) of the model was 0,910 and 0,849 (the model of excellent and of very good quality). The sensitivity of the prognostic model accounted for 86,4% and 82,5%, specificity – 82,2% and 81,8%.

This model of sepsis prognostication in a burn disease can be used to optimize the treatment of severely burnt patients while rendering medical aid to them in the republican and regional burn centers of the Republic of Belarus.

Key words: sepsis, prognostication, burn disease, hypocholesterolemia, immunoglobulin G.

Сепсис относится к наиболее тяжелым осложнениям ожоговой болезни. Он развивается у 8-42,5% тяжело обожженных пациентов и становится основной причиной их смерти (летальность - 65% и выше) [1]. Выделение групп высокого риска сепсиса позволяет оптимизировать лечение тяжело обожженных пациентов. Существующие прогностические системы для оценки тяжести и исхода сепсиса (SOFA, SAPS, ISS и др.) громоздки и сложны в применении [2]. Поэтому в практике наиболее часто используют простые и сокращенные формулы прогнозирования из 4-5 критериев [3]. Но использование отдельных предикторов или их набора не позволяет получить достоверный результат. Ожоговая болезнь характеризуется не только нарушениями сердечно-сосудистой системы, развитием респираторного дистресс-синдрома, эрозивно-язвенным поражением желудка, гиперметаболическим синдромом, но и ДВС-синдромом, вторичным иммунодефицитом, надпочечниковой недостаточностью. На развитие сепсиса оказывают влияние не только ожоговое повреждение, но и ответ на травму, проводимое лечение. Поэтому оптимально создавать прогностические модели на основе клинико-лабораторных показателей, в том числе специфических для ожоговой травмы.

Целью нашего исследования является создание прогностической модели развития сепсиса у пациентов с ожоговой болезнью на основе

клинико-лабораторных критериев, связанных с патогенезом ожоговой травмы и инфекционных осложнений, с учетом их мультипликативного эффекта у каждого пациента.

Материал и методы

Проводилось когортное проспективно-ретроспективное исследование тяжело обожженных пациентов (индекс тяжести поражения (ИТП) свыше 30 единиц) ожоговых отделений Городской клинической больницы скорой медицинской помощи г. Минска в период 2013-2015 гг.

Для диагностики сепсиса использовали критерии Согласительного совета по ожоговой инфекции Китайской медицинской ассоциации (табл. 1). Сепсис выставлялся при наличии минимум 6 из 11 положительных предварительных критериев и 1 и более подтверждающего инфекцию признака (гемокультура или положительный ответ на антибиотикотерапию) [4].

Учитывались все случаи выявленного сепсиса как непосредственно при проведении лечебно-диагностических мероприятия, так и при анализе медицинской документации.

Статистический анализ выполнено при помощи Excel AtteStat 10. Количественные данные представлены в виде медианы и квартильного промежутка – $Me(Me_{25}-Me_{75})$, качественные – в виде долей. Достоверность различий определяли

Таблица 1 – Критерии Согласительного совета по ожоговой инфекции Китайской медицинской ассоциации для диагностики сепсиса при термической травме, 2013 г.

Критерии воспалительного ответа	Подтверждающие инфекцию признаки
Гипертермия (более 39,0°C) или гипотермия (менее 36,5°C); Тахикардия (более 110 ударов в минуту); Тахипноэ (более 25 дыхательных движений в минуту); Тромбоцитопения (количество тромбоцитов менее 100 000/мкл); Гипергликемия при отсутствии сахарного диабета более 12 ммоль/л; Невозможность продолжения энтерального кормления более 24 ч; Лейкоциты (более 15 000/мкл или менее 5 000/мкл); Гипернатриемия (более 155 ммоль/л); Нарушение ментального статуса; Прокальцитонин (более 0,05 нг/мл).	<p>Ответ на антибиотикотерапию</p> <p>Гемокультура</p>
Минимальное количество признаков	
6 и более критериев	1 и более признаков

согласно критерию Манна-Уитни (U) и χ^2 (с расчетом критерия Фишера), достоверными отличия считались при $p < 0,05$.

Для создания прогностических моделей был использован метод бинарной логистической регрессии [5]. Разработка моделей производилась при помощи данных обучающей выборки, проверка моделей осуществлялась на тестовой выборке. Для прогнозирования развития сепсиса используется вероятность того, что у пациента с ожоговой болезнью разовьется или не разовьется сепсис. Вероятность развития сепсиса у пациентов с ожоговой болезнью (p) определялась как произведение отдельных предикторов или их долей. Вероятность развития сепсиса (p) равна:

$$p = e^Z / (1 + e^Z)$$

Методом максимального правдоподобия на основе данных обучающейся выборки создается уравнение логистической регрессии:

$$Z = \text{logit}(p) = a + b_1 x_1 + b_2 x_2 + \dots + b_n x_n,$$

где:

a – константа;

b – коэффициент логистической регрессии;

x – переменная.

Уравнение логистической регрессии позволяет оценить вероятность развития заболевания (сепсиса) у конкретного пациента с определенным набором предикторов. Уравнение бинарной логистической регрессии позволяет оценить влияние выявленного предиктора на вероятность развития сепсиса и выявить оптимальную комбинацию предикторов. Для создания уравнения бинарной логистической регрессии был использован метод Вальда – тестирование нулевой гипотезы, когда коэффициенты логистической регрессии равны нулю.

Оценка прогностической модели на основе уравнения бинарной логистической регрессии производилось при помощи ROC-анализа с расчетом площади под кривой (AUC), 95% доверительного интервала (ДИ), чувствительности, специфичности, точности, отношения правдоподобия.

Результаты и обсуждение

В обучающую выборку вошли пациенты с индексом тяжести поражения свыше 30 единиц, проходившие лечение в ожоговом центре в период 01.07.2014 - 31.12.2015 г. Из группы, состоящей первоначально из 102 пострадавших, были исключены 5 пациентов, погибших в период

ожогового шока, и 3 пациента в связи с неразглашением данных, представляющих собой тайну следствия. Таким образом, обучающая выборка состояла из 94 пациентов. В группу пациентов с сепсисом были включены 44 пациента, в группы пациентов без сепсиса – 50 пациентов без инфекционных осложнений или с локальными инфекциями без признаков генерализации. В тестовой выборке было 103 пациента с индексом тяжести поражения свыше 30 единиц, проходивших лечение в РОЦ в период 01.01.2013 - 30.06.2014 г. изначально, но 8 пациентов были исключены в связи со смертью в период ожогового шока. Таким образом, тестовую выборку составили 40 пациентов с сепсисом и 55 пациентов без сепсиса.

Для улучшения возможностей прогнозирования сепсиса и раннего проведения дифференцированного комплексного лечения тяжело обожженных, направленного на предупреждение генерализации инфекции, были проанализированы клинично-лабораторные показатели пациентов с ожоговой болезнью на вторые сутки после выхода из ожогового шока. Критериями выхода из ожогового шока являлись стабилизация артериального давления, нормализация диуреза и развитие полиурии, уменьшение гемоконцентрации, повышение температуры тела (свыше $36,0^\circ\text{C}$) [6].

Для выявления предикторов развития сепсиса у пациентов с ожоговой болезнью были проанализированы физикальные и лабораторные показатели на 2-е сутки после выхода из шока у пациентов обучающей выборки: среднее артериальное давление, ЧСС, частоты дыхания, доли нейтрофилов и доли молодых форм нейтрофилов, содержание фибриногена и альбумина, содержание тромбоцитов, гемоглобина, МНО, АЧТВ, показатели кислотно-основного состояния крови (рН, лактат, $p\text{CO}_2$, $p\text{O}_2$, бикарбонаты, дефицит оснований) (табл. 2).

Также поиск предикторов производился среди специфических показателей для ожоговой болезни – иммуноглобулины, кортизол, холестерол, прокальцитонин (ПКТ) и С-реактивный белок (СРБ) (табл. 3) [2, 7].

Иммуноглобулины наиболее рано могут отражать развитие вторичного иммунодефицита. Для диагностики надпочечниковой недостаточности определяли уровень кортизола. Прокальцитонин в большей степени отражает развитие шока, поэтому прокальцитонин значительно повышается при централизации кровообращения, кишечной транслокации микроорганизмов, ве-

Таблица 2 – Физикальные и лабораторные показатели на вторые сутки после выхода из ожогового шока пациентов обучающей выборки, Ме(Ме₂₅-Ме₇₅) или %, n=94

Показатель	Пациенты без сепсиса, n=50	Пациенты, у которых развился сепсис, n=44	U (χ^2), p
Среднее артериальное давление, мм рт.ст.	93,65(85,125-103,85)	89 (82-92,7)	U=721,5, p=0,004
Максимальная ЧСС, мин ⁻¹	84,5(77-99)	102(96-114,5)	U=538,5, p<0,001
Частота дыхания, мин ⁻¹	18(16-19)	18(18-21)	U=538,5, p<0,001
Максимальная температура тела, °C	36,6(36,6-37,0)	36,7(36-37,1)	U=915, p=0,162
SpO ₂ , %	99(98-99)	98(98-99)	U=909,5, p=0,150
Лейкоциты, тыс/мкл	11,6(8,24-13,48)	12,85(10,33-15,68)	U=905, p=0,141
Гемоглобин, г/л	117(108-141)	115 (108-137)	U=1084, p=0,909
Тромбоциты, тыс/мкл	149(107,25-173,25)	134,5(96,5-184,75)	U=1003,5, p=0,467
Доля пациентов с тромбоцитопенией, %	6,0	29,6	$\chi^2=9,19$, p=0,005
Доля молодых форм нейтрофилов, %	9(6-10)	14 (8,75-20)	U=544, p<0,001
Доля нейтрофилов, %	77,25(69,88-79,8)	80,6 (71,38-85)	U=712,5, p=0,003
АЧТВ, сек	28,7(27,13-32,20)	28,7(26,80-32,45)	U=1078, p=0,871
МНО,	1,05 (1,02-1,16)	1,08 (0,96-1,17)	U=1090,5, p=0,946
Фибриноген, г/л	4,7 (4,44-4,90)	5,8(4,02-6,86)	U=651, p=0,001
pH,	7,30 (7,27-7,34)	7,32 (7,29-7,37)	U=985, p=0,388
Лактат, ммоль/л	2,6 (1,7-3,15)	2,3 (1,4-3,15)	U=1069, p=0,817
BE, ммоль/л	-2,55 (-5,6 - -0,35)	-2,7(-5,3- 1,23)	U=1023, p=0,562
Бикарбонат, ммоль/л	22,75 (19,33-25,40)	23,2 (21,05-26,30)	U=939,5, p=0,225
Общий белок, г/л	50,9(48,2-53,43)	49,4(42,58-55,75)	U=1007, p=0,483
Альбумин, г/л	31,3 (30,1-32,7)	28,2 (25,4-32,6)	U=749, p=0,008
Креатинин, мкмоль/л	98,8(72,9-127,75)	85,5(69,2-115,2)	U=937, p=0,218
Глюкоза кап. крови, ммоль/л	6,4(5,025-7,1)	6,9 (4,9-8,55)	U=952, p=0,264

нозном мезотромбозе и др. Уровень холестерина чрезвычайно важен для ожоговых пациентов, так как холестерол является субстратом для стероидных анаболических гормонов, фосфолипидов. Низкий уровень холестерина на фоне алкогольной болезни или приема статинов значительно снижает устойчивость пациентов к шоку, септическому процессу, пневмониям и респираторному дистресс-синдрому. СРБ вырабатывается печенью в ответ на провоспалительные цитокины (ИЛ6) и характеризует выраженность провоспалительного ответа.

Методом «Вальда назад» была выбрана модель для прогнозирования сепсиса у пациентов с ожоговой болезнью, включающая константу и 5 переменных, из них 1 номинальный предиктор

(гипохолестеринемия) и 4 числовых предиктора – фибриноген, частота сердечных сокращений, доля нейтрофилов, содержание альбумина и иммуноглобулина G. Коэффициенты уравнения логистической регрессии приведены в таблице 4.

Вероятность развития сепсиса (p) у пациентов на фоне ожоговой болезни после выхода их ожогового шока возможно оценить по следующей формуле:

$$p = e^Z / (1 + e^Z),$$

где:

$$Z = - 5,027 + 1,383 \times \text{гипохолестеринемия} - 0,132 \times \text{альбумин (г/л)} + 0,888 \times \text{фибриноген (г/л)} + 0,083 \times \text{нейтрофилы (\%)} - 0,308 \times \text{иммуноглобулин G (г/л)}.$$

При проведении ROC-анализа на обуча-

Таблица 3 – Специфические лабораторные показатели на 2-е сутки после выхода из шока у пациентов обучающей выборки, $Me(Me_{25}-Me_{75})$ или %, $n=94$

Показатель	Пациенты без сепсиса, $n=50$	Пациенты с сепсисом, $n=44$	$U(\chi^2), p$
Ig A, г/л	2,19(1,85-2,84)	1,905(1,585-2,4825)	$U=833, p=0,043$
Ig M, г/л	0,895(0,67-1,12)	0,87(0,74-1,0725)	$U=1055, p=0,736$
Ig G, г/л	8,455(6,18-10,59)	6,015(4,67-7,24)	$U=533,3, p<0,001$
Доля пациентов с гипоглобулинемией G, %	32,0	65,9	$\chi^2=10,78, p=0,002$
Кортизол, нг/л	204,6(123,8-244,8)	154,4(86,0-230,9)	$U=574, p=0,349$
Холестерол, ммоль/л	3,76(3,40-5,40)	2,45(2,21-2,95)	$U=151, p=0,000$
Доля пациентов с гипохолестеринемией, %	34,0	61,4	$\chi^2=7,04, p=0,013$
СЦРБ, мг/л	29,3(18,6-47,9)	85,0 (69,2-103,5)	$U=134, p<0,001$
ПКТ, нг/мл	0,27(0,17-0,79)	0,60 (0,42-1,03)	$U=214, p=0,025$

Таблица 4 – Коэффициенты в уравнении логистической регрессии для прогнозирования сепсиса у пациентов с ожоговой болезнью с использованием специфических показателей

Предиктор	Коэффициент уравнения (B)	Стандартная ошибка коэффициента	p	Отношение шансов (ОШ)	95%ДИ ОШ
Иммуноглобулин G	-0,308	0,102	0,003	0,735	0,601-0,898
Нейтрофилы	0,083	0,035	0,018	1,086	1,015-1,163
Фибриноген	0,888	0,288	0,002	2,431	1,383-4,275
Альбумин	-0,132	0,072	0,068	0,876	0,760-1,010
Гипохолестеринемия	1,383	0,730	0,058	3,989	0,954-16,679
Константа	-5,027	3,953	0,203	0,007	

ющей выборке оптимальный прогностический уровень для развития сепсиса на фоне ожоговой болезни (p) cut-off=0,595 с включением в положительный результат. То есть при $p \geq 0,595$ прогнозируется течение ожоговой болезни с развитием сепсиса, а при $p \leq 0,595$ ожоговая болезнь должна протекать без генерализованной инфекции. При ROC-анализе модели на обучающей и тестовой выборках площадь под кривой (AUC) составила 0,910, и 0,849 (модель отличного и очень хорошего качества). Чувствительность прогностической модели в обучающей выборке составила 86,4%, в тестовой – 82,5%, специфичность – 82,2% и 81,8% соответственно. Отношение правдоподобия для модели в обучающей выборке составила 4,80, а в тестовой – 4,25, т.е. модель была в 4,80 раза эффективнее в обучающей группе и в 4,25 раза эффективнее в тестовой группе, чем стандартные методики прогнозирования сепсиса.

Заключение

Таким образом, построенная методом би-

нарной логистической регрессии модель прогнозирования сепсиса у пациентов с ожоговой болезнью, включающая в себя следующие переменные: наличие гипохолестеролимии содержания фибриногена и альбумина, долю нейтрофилов и уровень иммуноглобулина G – продемонстрировала высокую эффективность в обучающей и тестовой выборках. Чувствительность модели в обучающей группе составила 86,4% и в тестовой группе 82,5% специфичность – 82,2% и 81,8% соответственно. Качество прогностической модели расценивается как «отличное» и «очень хорошее».

Полученная модель в 4,80 раза эффективнее в обучающей группе и в 4,25 раза эффективнее в тестовой группе, чем стандартные методики прогнозирования сепсиса. Предложенная модель прогнозирования может быть использована для оптимизации лечения тяжело обожженных пациентов при оказании помощи в республиканском и областных ожоговых центрах Республики Беларусь.

Литература

1. Chipp, E. Sepsis in burns: a review of current practice and future therapies / E. Chipp, C. S. Milner, A. V. Blackburn // *Ann. Plast. Surg.* – 2010 Aug. – Vol. 65, N 2. – P. 228–236.
2. Прогнозирование гнойно-инфекционных осложнений у больных с термической травмой / Т. Н. Обыденникова [и др.] // *Тихоокеан. мед. журн.* – 2003. – № 4. – С. 68–70.
3. Гринев, М. В. Хирургический сепсис / М. В. Гринев, М. И. Громов, В. Е. Комраков. – СПб., 2001. – 315 с.
4. Diagnostic criteria and treatment protocol for post-burn

sepsis / P. Yizhi [et al.] // *Crit. Care.* – 2013 Jan. – Vol. 17, N 1. – P. 406.

5. Петри, А. Наглядная медицинская статистика / А. Петри, К. Сэбин. – М. : ГЕОТАР-Медиа, 2009. – 165 с.
6. Кошельков, Я. Я. Избранные лекции по «Комбустологии и криопатологии» / Я. Я. Кошельков, А. Е. Серебряков. – Минск : БелМАПО, 2012. – 121 с.
7. Диагностика сепсиса и других инфекционных осложнений у пациентов с ожоговой болезнью / Е. В. Жилинский [и др.] // *Экстрен. медицина.* – 2015. – № 3. – С. 100–112.

Поступила 13.01.2017 г.

Принята в печать 04.04.2017 г.

References

1. Chipp E, Milner CS, Blackburn AV. Sepsis in burns: a review of current practice and future therapies. *Ann Plast Surg.* 2010 Aug;65(2):228-36. doi: 10.1097/SAP.0b013e3181c9c35c
2. Obydennikova TN, Usov VV, Gorsheev AN, Terekhov SM, Yakushin SV. Forecasting purulent-infectious complications in patients with thermal injury. *Tikhookean Med Zhurn.* 2003;(4):68-70. (In Russ.)
3. Grinev MV, Gromov MI, Komrakov VE. Surgical sepsis. Saint Petersburg, RF; 2001. 315 p. (In Russ.)

4. Yizhi P, Jing C, Zhiqiang Y, Xiaolu L, Gaoxing L, Jun W. Diagnostic criteria and treatment protocol for post-burn sepsis. *Crit Care.* 2013 Jan;17(1):406. doi: 10.1186/cc11912.
5. Petri A, Sebin K. Visual medical statistics. Moscow, RF: GEOTAR-Media; 2009. 165 p. (In Russ.)
6. Koshelkov YaYa, Serebryakov AE. Selected lectures on «Combustiology and kriptologii». Minsk, RB: BelMAPO; 2012. 121 p. (In Russ.)
7. Zhyllinskiy EV, Chasnoyt' ACh, Alekseev SA, Tsvetkova NV. Diagnostics of sepsis and other infectious complications in patients with burn disease. *Ekstren Meditsina.* 2015;(3):100-12. (In Russ.)

Submitted 13.01.2017

Accepted 04.04.2017

Сведения об авторах:

Жилинский Е.В. – врач-хирург ожогового отделения, Городская клиническая больница скорой медицинской помощи г. Минска, аспирант заочной формы обучения кафедры общей хирургии, Белорусский государственный медицинский университет.

Information about authors:

Zhyllinski Y.V. – surgeon of the burns department, Minsk City Clinical Emergency Hospital, post-graduate of the Chair of General Surgery, Belarusian State Medical University.

Адрес для корреспонденции: Республика Беларусь, 220024, г. Минск, ул. Кижеватого, 58, Городская клиническая больница скорой медицинской помощи. E-mail: e.zhyllinski@list.ru – Жилинский Евгений Викторович.

Correspondence address: Republic of Belarus, 210113, Minsk, 58 Kizhevato str., Minsk City Clinical Emergency Hospital. E-mail: e.zhyllinski@list.ru E-mail: e.zhyllinski@list.ru – Yauhen V. Zhyllinski.

ВЛИЯНИЕ ВИДА АНЕСТЕЗИИ НА КАЧЕСТВО ЖИЗНИ ЖЕНЩИН ПОСЛЕ РАДИКАЛЬНОЙ МАСТЭКТОМИИ

ЯСКЕВИЧ В.В.¹, МАРОЧКОВ А.В.², НИКИТИН С.Г.¹, ШАРФ И.А.¹

¹Бобруйский межрайонный онкологический диспансер, г. Бобруйск, Республика Беларусь

²Могилевская областная больница, г. Могилев, Республика Беларусь

Вестник ВГМУ. – 2017. – Том 16, №2. – С. 85-90.

THE INFLUENCE OF ANESTHESIA TYPE ON THE LIFE QUALITY OF WOMEN AFTER RADICAL MASTECTOMY

YASKEVICH V.V.¹, MAROCHKOV A.V.², NIKITIN S.G.¹, SHARF I.A.¹

¹Inter-district Oncologic Dispensary1, Bobruisk, Republic of Belarus

²Mogilev Regional Hospital, Mogilev, Republic of Belarus

Vestnik VGMU. 2017;16(2):85-90.

Резюме.

Цель исследования – оценить влияние вида анестезии на качество жизни (КЖ) у пациенток с раком молочной железы с помощью шкалы FACT-G и FACT-B.

Материал и методы. В качестве инструмента для оценки показателей КЖ применяли шкалу FACT-G и шкалу FACT-B (© 2010 FACIT.org). В исследовании приняло участие 75 женщин, возраст которых составил от 34 до 76 лет, Me=62 (57;67) года. 25 женщин были опрошены до операции. У 50 опрошенных женщин после выполнения им радикальной мастэктомии прошло от 8 до 16 месяцев. Мы сравнили между собой оценки КЖ у женщин до операции и у женщин после операции. Также мы сравнили оценки КЖ в зависимости от вида проведенной анестезии (многокомпонентная сбалансированная эндотрахеальная анестезия и многокомпонентная сбалансированная эндотрахеальная анестезия с грудной паравerteбральной блокадой).

Результаты. Более высокие оценки КЖ по шкалам FACT-G и FACT-B регистрировали у женщин после радикальной мастэктомии. Различия были статистически значимы по шкале FACT-G ($p<0,05$). Не было выявлено различий в оценках КЖ по шкалам FACT-G и FACT-B в группах с различным анестезиологическим обеспечением.

Заключение. У женщин с РМЖ после операции оценки КЖ имели более высокие значения, чем у женщин с РМЖ до операции. Вид анестезиологического обеспечения не повлиял на оценку КЖ по шкалам FACT-G и FACT-B у пациенток при анкетировании через 8-16 месяцев после радикальной мастэктомии.

Ключевые слова: мастэктомия, паравerteбральная блокада, качество жизни, FACT-B, FACT-G.

Abstract.

Objectives. To evaluate the influence of anesthesia type on the quality of life (QOL) in female patients with breast cancer using the scales FACT-G and FACT-B.

Material and methods. The scales FACT-G and FACT-B were used as a tool for the evaluation of the QOL (© 2010 FACIT.org).

The study involved 75 women, whose age ranged from 34 to 76 years, Me=62 (57;67). 25 women were interviewed before the surgical intervention. From 8 to 16 months passed after the radical mastectomy in 50 interviewed women. We compared the QOL assessment of women before surgery and that of females after surgery. We also compared their QOL assessment depending on the kind of given anesthesia (multi-component balanced endotracheal anesthesia and multi-component balanced endotracheal anesthesia with thoracic paravertebral block).

Results. It has been registered that women after radical mastectomy had higher scores of the QOL according to scales FACT-G and FACT-B. The differences were statistically significant on the scale FACT-G ($p<0,05$). No differences in the QOL were found on the scales FACT-G and FACT-B in the groups with different anesthetic management.

Conclusions. Women with breast cancer after surgery had higher values of the QOL, than those with breast cancer before this surgery. The kind of anesthesia did not affect the QOL assessment on the scales FACT-G and FACT-B during the survey of patients in 8-16 months after radical mastectomy.

Key words: mastectomy, paravertebral block, breast cancer, quality of life, FACT-B, FACT-G.

Рак молочной железы у женщин в структуре заболеваемости злокачественными новообразованиями в Республике Беларусь занимает одно из первых мест и составляет 17,6% [1].

При раке молочной железы (РМЖ) выполнение радикальной операции является важной составляющей комплексного лечения. Наиболее распространенным хирургическим вмешательством при раке молочной железы является радикальная мастэктомия, выполнение которой нуждается в анестезиологическом обеспечении. Доказано влияние вида анестезии на ближайшие и отдаленные результаты хирургического лечения в хирургии и онкологии [2]. Так, в Кокрейновском обзоре М.Н. Andreae и D.A. Andreae, анализируя исследования, в которых изучали влияние анестезии и наличие болевого синдрома через 6 и 12 месяцев, пришли к выводу, что применение эпидуральной анестезии может снизить риск развития хронической боли после торакотомии, а применение паравerteбральной блокады может снизить риск возникновения хронической боли после хирургического лечения рака молочной железы [3]. Вместе с тем, следует отметить, что такой показатель, как качество жизни (КЖ), по решению Американского общества клинической онкологии (ASCO) и Национального института рака (NCI), по значимости критериев оценки результатов противоопухолевой терапии оценивается выше, чем уровень безрецидивной выживаемости [4]. По определению ВОЗ, качество жизни – это восприятие индивидами их положения в жизни в контексте культуры и системе ценностей, в которых они живут, в соответствии с целями, ожиданиями, нормами и заботами [5]. Однако единых общеприменимых критериев и норм исследования КЖ не существует. Основные инструменты для изучения КЖ – это стандартизированные опросники, апробированные в клинических исследованиях и клинической практике [6].

Изучение влияния анестезии на КЖ пациентов также представляет определенный интерес.

Цель исследования – оценить влияние вида анестезии на качество жизни у пациенток с раком молочной железы с помощью шкалы FACT-G и FACT-B.

Материал и методы

В качестве инструмента для оценки показателей КЖ применяли шкалу FACT-G - Functional Assessment of Cancer Therapy General (общая шкала оценки качества жизни онкологических больных) и шкалу FACT-B – Functional Assessment of Cancer Therapy of Breast (шкала функциональной оценки лечения рака молочной железы) (© 2010 FACIT.org). Нами была получена лицензия от 24.02.2016 года для некоммерческого использования данных шкал на русском языке (Copyright 1987, 1997 FACIT.org). Сами шкалы представляют собой краткие анонимные анкеты-опросники.

FACT-G (версия 4) включает 27 вопросов и состоит из 4 функциональных подшкал:

- «Физическое состояние» (PWB – Physical well-being) состоит из 7 вопросов;
- «Социальные/семейные взаимоотношения» (SWB – Social/Family well-being) – из 7 вопросов;
- «Эмоциональное благополучие» (EWB - Emotional well-being) – из 6 вопросов;
- «Благополучие в повседневной жизни» (FWB – Functional well-being) – из 7 вопросов.

Шкала FACT-B включает в себя анкету-опросник FACT-G и дополнительный модуль, состоящий из 10 вопросов:

- «Дополнительные показатели» (BCS – Breast cancer subscale).

На каждый вопрос нужно выбрать ответ из 5 вариантов: «совсем нет», «немного», «умеренно», «сильно» и «очень сильно». Каждый вариант ответа имеет числовой аналог от «0» до «4» соответственно.

Обработка первичных данных проводится согласно руководству разработчиков анкеты по авторской методике, разглашение данной методики и воспроизведение анкеты или её части запрещено условиями лицензионного соглашения.

После обработки полученных данных по формулам авторской методики, вычисляют:

- значение каждой из подшкал;
- Trial Outcome Index (TOI) – предварительный результирующий индекс, который включает в себя значения физического благополучия

+ благополучие в повседневной жизни (функциональное) + влияние заболевания (дополнительные показатели);

– FАСТ-G: дает оценку общего состояния, путем вычисления общего балла 4 функциональных шкал;

– FАСТ-B: сумма 4 функциональных шкал и дополнительного модуля BCS.

Интерпретация полученных данных довольно проста: «чем выше полученные в результате расчетов баллы, тем выше КЖ».

Проведение исследования было одобрено Комитетом по этике УЗ «Бобруйский межрайонный онкологический диспансер». Исследование проводилось на базе УЗ «Бобруйский межрайонный онкологический диспансер» в период времени с 01.03.2016 г. по 10.01.2017 г. Женщины, принявшие участие в анкетировании, после короткого инструктажа сами заполняли опросник на бумажном носителе. Анкетирование у женщин до операции производилось в палате за 1 день до оперативного вмешательства. У женщин после операции анкетирование производили амбулаторно, на приеме у маммолога.

Критерии включения: женщины с установленным диагнозом «рак молочной железы 1-3 стадии» до операции и которым была выполнена радикальная операция, добровольное согласие на проведение анкетирования.

Критерии исключения: отказ от проведения анкетирования, 4 стадия заболевания, наличие еще одного злокачественного новообразования другой локализации, срок после операции менее 8 или более 16 месяцев, невозможность сотрудничать с пациентом.

В исследовании приняло участие 75 женщин, возраст которых составил от 34 до 76 лет, Me=62 (57;67) года. Был проведен анализ 75 анкет.

Все анкеты соответствовали требованиям разработчиков: годными для анализа анкетами

являются анкеты с количеством ответов по каждой из подшкал более 50%, и общее количество отвеченных вопросов для каждой шкалы должно быть больше 80%.

25 женщин были опрошены до выполнения им оперативного вмешательства, за 1 день до операции. Они составили группу 1. Средний возраст женщин в этой группе составил 62 (52;68) года.

У 50 опрошенных женщин после выполнения им радикальной мастэктомии прошло от 8 до 16 месяцев. Они составили группу 2. Средний возраст женщин в этой группе составил 62 (57;66) года.

Сравнение групп между собой представлено в таблице 1.

Между группами 1 и 2 не было выявлено статистически значимых различий по возрасту, стороне и виду операции.

В зависимости от проведенного анестезиологического обеспечения женщины в группе 2 были разделены еще на 2 подгруппы. В подгруппу 2А объединены женщины, которым оперативное вмешательство выполнено с использованием многокомпонентной сбалансированной эндотрахеальной анестезии. А в подгруппу 2Б – лица, которым оперативное вмешательство выполнялось с использованием комбинированной анестезии: грудной паравerteбральной блокады малыми дозами местного анестетика и многокомпонентной сбалансированной эндотрахеальной анестезии [7].

Далее проводили сравнение полученных результатов в группах в зависимости от вида анестезии и периода времени, прошедшего после операции.

Полученные данные были обработаны с применением параметрических и непараметрических методов статистики. Статистическую обработку проводили с помощью программы Statistica 10.0 и LibreOffice версия: 5.0.

Для оценки нормальности распределения

Таблица 1 – Характеристика пациенток 1-ой и 2-ой групп

	Группа 1, n=25	Группа 2, n=50	Полученное значение р (достигнутый уровень значимости)
Возраст, годы	62,0 (52,0;68,0)	62,0 (57,0;66,0)	0,666 ¹
Вид операции, по Маддену/по Пейти – по Холстеду, n (%)	24/1* (96/4)	45/5 (90/10)	0,657 ²
Сторона операции, слева/справа (%)	14/11 (56/44)	25/25 (50/50)	0,624 ³

Примечание: ¹ – критерий Манна-Уитни; ² – двусторонний точный критерий Фишера; ³ – критерий хи-квадрат (x²) Пирсона; * – представлен объем операции, впоследствии выполненный у пациенток.

выборки использовали критерий Шапиро-Уилка. При нормальном распределении рассчитывали среднее арифметическое (M) и стандартное отклонение (SD). При распределении, отличном от нормального, рассчитывали медиану (Me), 25 и 75 процентиля. Для сравнения групповых различий рассчитывали критерий Манна-Уитни для независимых выборок. Для сравнения групп между собой по частотным показателям рассчитывали двусторонний точный критерий Фишера (при ожидаемом количестве наблюдений менее 5) и критерий хи-квадрат (χ^2) Пирсона. Различия между группами считались статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты

Средние значения оценок КЖ по шкалам в группе 1 и группе 2 представлены в таблице 2.

Нами отмечены более высокие оценки КЖ по шкалам FACT-G и FACT-B в группе 2. Различия были статистически значимы по шкале FACT-G. По шкале FACT-B статистической значимости различий между группами выявлено не было.

Для выявления возможного влияния вида анестезии на КЖ было проведено сравнение между оценками КЖ у пациенток в подгруппе 2А и 2Б.

Результаты сравнения этих подгрупп по КЖ представлены в таблице 3.

Как видно из таблицы 3, подгруппы 2А и 2Б не различались между собой по возрасту, виду и стороне операции. Также не было отмечено раз-

личий в средних оценках КЖ по шкале FACT-G и FACT-B в подгруппах 2А и 2Б.

Обсуждение

Оценка такого показателя, как КЖ занимает все большее место в оценке результатов лечения различных заболеваний и активно внедряется в клиническую практику во всем мире [9].

У пациенток после хирургического лечения рака молочной железы отмечаются более высокие значения оценок КЖ по шкалам FACT-G и FACT-B, чем значения оценок КЖ у женщин до оперативного лечения. Учитывая достаточно высокий процент отказов от радикального лечения (2,2%) [10], изучение и учет оценок КЖ у женщин с РМЖ должно помочь снизить количество отказов от радикального лечения.

Полученные нами данные по оценке КЖ после оперативного лечения РМЖ согласуются с имеющимися в литературных источниках данными, полученными другими авторами с помощью шкал FACT-G и FACT-B [11]. Для примера, в таблице 2 справочно приведены средние значения по шкалам FACT-G и FACT-B для популяции США.

Анестезиологами предпринимались неоднократные попытки оценить влияние анестезии на КЖ после операции. Так, Кармакар и соавт. изучали влияние паравертебральной блокады на КЖ пациенток после радикальной мастэктомии [12]. В результате ими было отмечено, что через 3 и через 6 месяцев после радикальной мастэктомии вид анестезии не повлиял на риск возникновения

Таблица 2 – Оценка качества жизни в группе 1 и группе 2

		FACT-G	FACT-B
Группа 1, n=25, баллы	M(SD)*	71,5 (10,4)	97,7 (12,2)
	Me (25%;75%)	73,3 (61,4; 78,8)	96,9 (92,3; 106,5)
Группа 2, n=50, баллы	M(SD)*	78,3 (16,1)	103,8 (22,2)
	Me (25%;75%)	78,3 (66,5; 90,0)	103,9 (88,8; 119,0)
Критерий Манна-Уитни		U=436,0, z=-2,12, p=0,034	U=468,5, z=-1,75, p=0,079
Разность между средними M		-6,8	-6,1
Общее стандартное отклонение (Common SD)		14,7	19,5
Размер эффекта* (Effect size)		-0,46	-0,31
Средние значения шкалы FACT-G и FACT-B для популяции США [8]		88,8 (16,3)	112,8 (20,9)

Примечание: * – данные значения рассчитаны и приведены по рекомендации разработчиков анкеты.

Таблица 3 – Оценка качества жизни в подгруппах 2А и 2Б

		Подгруппа 2А, n=25	Подгруппа 2Б, n=25	Полученное значение р (достигнутый уровень значимости)
Возраст, годы		62,0 (58,0;66,0)	62,0 (57,0;66,0)	0,930 ¹
Вид операции, по Маддену/по Пейти-по Холстеду, n (%)		23/2 (92/8)	22/3 (88/12)	1,000 ²
Сторона операции, слева/справа, n (%)		10/15 (40/60)	15/10 (60/40)	0,157 ³
FACT-G, баллы	M(SD)	78,1 (15,8)	78,4(16,8)	
	Me (25%;75%)	78,0 (69,0;87,0)	77,4 (66,5;90,0)	0,861 ¹
FACT-B, баллы	M(SD)	102,8 (22,6)	104,7 (22,2)	
	Me (25%;75%)	104,8 (88,8;115,2)	103,0 (89,3;120,8)	0,742 ¹

Примечание: ¹ – критерий Манна-Уитни; ² – двусторонний точный критерий Фишера; ³ – критерий хи-квадрат (χ^2) Пирсона.

хронической боли. Однако выраженность болевого синдрома была меньше у пациенток, которым была проведена паравертебральная блокада. У этих же пациенток было отмечено повышение физического и психологического КЖ по сравнению с пациентками, которым паравертебральная блокада не проводилась. В другом исследовании, Chiu и соавт. также пришли к выводу о положительном влиянии грудной паравертебральной блокады на КЖ через 1 год после хирургического лечения рака молочной железы [13].

Данное исследование является пилотным поперечным исследованием. Учитывая его дизайн и длительный период времени для изучения явлений и оценки качества жизни у одних и тех же пациенток, требуется проведение более широкого исследования.

В проведенном нами исследовании не было выявлено различий между оценками КЖ по шкалам FACT-G и FACT-B у женщин, которым радикальная мастэктомия выполнялась с различным анестезиологическим обеспечением.

Заключение

1. У женщин с РМЖ после операции оценки КЖ имели более высокие значения, чем у женщин с РМЖ до операции. Этот факт может положительно повлиять на выбор метода лечения женщинам с РМЖ и снизить количество отказов от радикального лечения.

2. Вид анестезиологического обеспечения не повлиял на оценку КЖ по шкалам FACT-G и FACT-B у пациенток при анкетировании через 8-16 месяцев после радикальной мастэктомии.

Литература

1. Маммографический скрининг для ранней диагностики рака молочной железы / О. Г. Сукоко [и др.] // Онкол. журн. – 2015. – Т. 9. – № 3. – С. 94–99.
2. Овечкин, А. М. Влияние регионарной анестезии и анальгезии на результаты хирургического лечения / А. М. Овечкин // Регионар. анестезия и лечение острой боли. – 2015. – Т. 9, № 1. – С. 45–54.
3. Andrae, M. H. Local anaesthetics and regional anaesthesia for preventing chronic pain after surgery / M. H. Andrae, D. A. Andrae // Cochrane. Database. Syst. Rev. – 2012 Oct. – Vol. 10. – P. CD007105.
4. Качество жизни больных местно-распространенными формами рака молочной железы как критерий оценки комплексного лечения с применением быстрых нейтронов 6,3 мэв / Ж. А. Жогина [и др.] // Сибир. онкол. журн. – 2007. – № 4. – С. 36–43.
5. WHOQOL: Measuring Quality of Life [Electronic resource] / WHO. – Mode of access: <http://www.who.int/healthinfo/survey/whoqol-qualityoflife/en/>. – Date of access: 22.02.2017.
6. Евсин, О. В. Качество жизни в медицине – важный показатель состояния здоровья пациента (обзор литературы) / О. В. Евсина // Личность в меняющемся мире: здоровье, адаптация, развитие. – 2013. – № 1. – С. 119–133.
7. Яскевич, В. В. Паравертебральная блокада как компонент анестезиологического обеспечения хирургических вмешательств при лечении рака молочной железы / В. В. Яскевич, А. В. Марочков // Новости хирургии. – 2015. – Т. 23, № 6. – С. 666–672.
8. Assessment of quality of life in women undergoing hormonal therapy for breast cancer: validation of an endocrine symptom subscale for the FACT-B / L. J. Fallowfield [et al.] // Breast. Cancer. Res. Treat. – 1999 May. – Т. 55, N 2. – P. 189–199.
9. Дьяченко, В. Г. Перспективы изучения качества жизни больных раком молочной железы (обзор литературы) / В. Г. Дьяченко, А. С. О. В. Л. Коваленко // Дальневосточ. мед. журн. – 2013. – № 3. – С. 134–138.
10. Океанов, А. Е. Статистика онкологических заболеваний в Республике Беларусь (2004–2013) / А. Е. Океанов, П. И. Монсеев, Л. Ф. Левин. – Минск : РНПЦ ОМР им. Н. Н. Александрова, 2014. – 382 с.

11. Webster, K. The Functional Assessment of Chronic Illness Therapy (FACIT) Measurement System: properties, applications, and interpretation / K. Webster, D. Cella, K. Yost // Health Qual. Life Outcomes. – 2003 Dec. – Vol. 1. – P. 79
12. Thoracic paravertebral block and its effects on chronic pain and health-related quality of life after modified radical

- mastectomy / M. K. Karmakar [et al.] // Reg. Anesth. Pain. Med. – 2014 Jul-Aug. – Vol. 39, N 4. – P. 289–298.
13. Reducing persistent postoperative pain and disability 1 year after Breast cancer surgery: a randomized, controlled trial comparing thoracic paravertebral block to local anesthetic infiltration / M. Chiu [et al.] // Ann. Surg. Oncol. – 2014 Mar. – Vol. 21, N 3. – P. 795–801.

Поступила 21.02.2017 г.

Принята в печать 04.04.2017 г.

References

1. Sukonko OG, Shapoval EV, Ismail-zade RS, Mikulich DV, Tret'yak IYu, Shimanets SV. Mammography screening for early diagnostics of a breast cancer. Onkol Zhurn. 2015;9(3):94-9. (In Russ.)
2. Ovechkin AM. Influence of a regional anesthesia and analgesia on results of surgical treatment. Regionar Anesteziia Lechenie Ostroi Boli. 2015;9(1):45-54. (In Russ.)
3. Andrae MH, Andrae DA. Local anaesthetics and regional anaesthesia for preventing chronic pain after surgery. Cochrane Database Syst Rev. 2012 Oct;10:CD007105. doi: 10.1002/14651858.CD007105.pub2
4. Zhogina ZhA, Musabaeva LI, Balatskaya LN, Slonimskaya EM. Quality of life of patients with locally-spread forms of a breast cancer as criterion for evaluation of complex treatment with use the bystrykh of neutrons 6,3 mev. Sibir Onkol Zhurn. 2007;(4):36-43. (In Russ.)
5. WHO. WHOQOL: Measuring Quality of Life [Internet]. 2017 [cited 2017 Feb 22]. Available from: <http://www.who.int/healthinfo/survey/whoqol-qualityoflife/en/>.
6. Evsin OV. Quality of life in medicine – an important indicator of the state of health of the patient (the review of literature). Lichnost' v meniaiushchemsya mire: zdorov'e, adaptatsiia, razvitie. 2013;(1):119-33. (In Russ.)
7. Yaskevich VV, Marochkov AV. Paravertebral blockade as a component of anesthetic management of surgical interventions in the treatment of breast cancer. Novosti Khirurgii. 20015;23(6):666-72. (In Russ.)
8. Fallowfield LJ, Leaity SK, Howell A, Benson S, Cella D. Assessment of quality of life in women undergoing hormonal therapy for breast cancer: validation of an endocrine symptom subscale for the FACT-B. Breast Cancer Res Treat. 1999 May;55(2):189-99.
9. D'yachenko VG, O AS, Kovalenko VL. Prospects of studying of quality of life of patients with cancer of a mammary gland (review of literature). Dal'nevostoch Med Zhurn. 2013;(3):134-8. (In Russ.)
10. Okeanov AE, Moiseev PI, Levin LF. Statistics of oncologic diseases in Republic of Belarus (2004-2013). Minsk, RB: RNPTs OMR im NN Aleksandrova; 2014. 382 p. (In Russ.)
11. Webster K, Cella D, Yost K. The Functional Assessment of Chronic Illness Therapy (FACIT) Measurement System: properties, applications, and interpretation. Health Qual Life Outcomes. 2003 Dec;1:79. doi:10.1186/1477-7525-1-79
12. Karmakar MK, Samy W, Li JW, Lee A, Chan WC, Chen PP, et al. Thoracic paravertebral block and its effects on chronic pain and health-related quality of life after modified radical mastectomy. Reg Anesth Pain Med. 2014 Jul-Aug;39(4):289-98. doi: 10.1097/AAP.0000000000000113
13. Chiu M, Bryson GL, Lui A, Watters JM, Taljaard M, Nathan HJ. Reducing persistent postoperative pain and disability 1 year after Breast cancer surgery: a randomized, controlled trial comparing thoracic paravertebral block to local anesthetic infiltration. Ann Surg Oncol. 2014 Mar;21(3):795-801. doi: 10.1245/s10434-013-3334-6

Submitted 21.02.2017

Accepted 04.04.2017

Сведения об авторах:

Яскевич В.В. – врач-анестезиолог-реаниматолог, Бобруйский межрайонный онкологический диспансер;
 Марочков А.В. – д.м.н., профессор, врач анестезиолог-реаниматолог, Могилевская областная больница;
 Никитин С.Г. – врач-маммолог, Бобруйский межрайонный онкологический диспансер;
 Шарф И.А. – главный врач, Бобруйский межрайонный онкологический диспансер.

Information about authors:

Yaskevich V.V. – anesthesiologist-resuscitator, Bobruisk Inter-district Oncologic Dispensary;
Marochkov A.V. – Doctor of Medical Sciences, professor, anesthesiologist-resuscitator, Mogilev Regional Hospital;
Nikitin S.G. – mammologist, Bobruisk Inter-district Oncologic Dispensary;
Sharf I.A. – head doctor, Bobruisk Inter-district Oncologic Dispensary.

Адрес для корреспонденции: Республика Беларусь, 213825, Могилевская область, г. Бобруйск, пер. Сосновый 40, Бобруйский межрайонный онкологический диспансер. E-mail: varera@tut.by – Яскевич Валерий Викторович.

Correspondence address: Republic of Belarus, 213825, Mogilev Region, Bobruisk, 40 Sosnovy by-str., Bobruisk Inter-district Oncologic Dispensary. E-mail: varera@tut.by – Valeriy V. Yaskevich.

ВЛИЯНИЕ ГЛЮКОЗАМИНИЛМУРАМИЛПЕНТАПЕПТИДА НА ПАТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ЗВЕНЬЯ ПРОЦЕССОВ НЕОКОЛЛАГЕНЕЗА И ВОСПАЛЕНИЯ БРОНХИАЛЬНОГО ДЕРЕВА ПРИ ИНФИЛЬТРАТИВНОМ ТУБЕРКУЛЕЗЕ ЛЕГКИХ НА ФОНЕ ХРОНИЧЕСКОГО БРОНХИТА

МЕЛЬНИК- ШЕРЕМЕТА О. П., ОСТРОВСКИЙ Н.Н.

Ивано-Франковский национальный медицинский университет, г. Ивано-Франковск, Украина

Вестник ВГМУ. – 2017. – Том 16, №2. – С. 91-96.

THE INFLUENCE OF GLUCOSAMINILMURAMILPENTAPEPTIDE ON THE PATHOGENETIC LINKS OF THE PROCESSES OF NEOCOLLAGENESIS AND BRONCHIAL TREE INFLAMMATION IN INFILTRATIVE TUBERCULOSIS OF THE LUNGS ACCOMPANIED BY CHRONIC BRONCHITIS

MELNIK-SHEREMETA O.P., OSTROVSKY N.N.

Ivano-Frankovsk National Medical University, Ivano-Frankovsk, Ukraine

Vestnik VGMU. 2017;16(2):91-96.

Резюме.

Представлены особенности неокollaгенеза и локального воспаления бронхиального дерева у больных инфильтративным туберкулезом в сочетании с хроническим бронхитом, которым к основному курсу лечения добавлен иммуномодулятор мурамилпептидного ряда. Было обследовано 40 пациентов с инфильтративным туберкулезом в сочетании с хроническим бронхитом. Формулировку диагноза инфильтративного туберкулеза проводили согласно материалам приказа МЗ Украины № 731 от 16.08.2013 г. и № 620 от 04.09.2014 г. «Об утверждении унифицированного клинического протокола первичной, вторичной (специализированной) и третичной (высоко-специализированной) медицинской помощи «Туберкулез». Диагноз хронического бронхита выставляли на основании Международной статистической классификации болезней и проблем здоровья X, клинических и физикально-инструментальных признаков (продуктивный кашель не менее 3-х месяцев в году в течение 2-х и более лет, наличие в фазе обострения сухих хрипов, анамнестически 2-3 обострения в год в течение последних 2 лет, рентгенологические признаки: утолщение стенок бронхов и пневмосклероз). Оценка уровня коллагена IV типа и С-реактивного белка в бронхоальвеолярном содержимом проводилась до начала, на 30-й и 150-й дни лечения туберкулеза по стандартной схеме согласно I категории с назначением глюкозаминилмурамилпентапептида. Анализ результатов исследования выявлено значительное снижение показателей коллагена IV типа и С-реактивного белка в основной группе по сравнению с группой, где пациенты получали только стандартную схему лечения.

Ключевые слова: туберкулез, хронический бронхит, коллаген IV типа, С-реактивный белок.

Abstract.

The peculiarities of neocollagenesis and local inflammation of the bronchial tree in patients with infiltrative tuberculosis combined with chronic bronchitis, who in addition to the main course of treatment received the immunomodulator of muramipeptide series are presented in this article. The study involved 40 patients with infiltrative tuberculosis combined with chronic bronchitis. Formulation of the diagnosis of infiltrative tuberculosis was made according to the materials of the order of the Ukrainian Ministry of Health dated of 16.08.2013 № 731 and № 620 dated of 09.04.2014 «On approval of the unified clinical protocol of primary, secondary (specialized) and tertiary (highly specialized) medical aid in case of

tuberculosis». The diagnosis of chronic bronchitis was made on the basis of the International Statistical Classification of Diseases and Health Problems X, clinical, physical and instrumental signs (productive cough for at least 3 months a year during 2 or more years, the presence at the exacerbation stage of dry rales, anamnestic exacerbations 2-3 per year over the last 2 years, such radiological signs as thickening of the bronchial walls, and pneumosclerosis). The evaluation of type IV collagen and C-reactive protein level in the bronchoalveolar contents was conducted before the beginning, on the 30th and on the 150th day of TB treatment using the standard scheme according to the first category with the administration of glucosaminilmuramilpentapeptide. Having assessed the results of the study, we noticed a significant decrease in the indices of type IV collagen and C-reactive protein in the main group compared to the group in which the patients received only the standard treatment.

Key words: tuberculosis, chronic bronchitis, type IV collagen, C-reactive protein.

Большое количество программ, которые были созданы для борьбы с туберкулезом, не позволяет искоренить это заболевание. По данным ВОЗ, количество случаев заболевания туберкулезом составило 10,4 млн человек в 2015 г., а 1800000 – умерли от этой болезни. По данным мировой статистики, Украина – страна, где широко распространен мультирезистентный туберкулез, что обусловлено несвоевременным выявлением заболевания и сочетанием его с другими болезнями [1-4].

Распространенность (4,4%) и заболеваемость (3,3 %) туберкулезом в Украине с 2007 года снижаются и, по данным ВОЗ, в 2015 г. уровень заболеваемости составил 70,5 случаев на 100 тыс. населения, что значительно превышает целевые задачи программы «Остановим туберкулез», которые определены на уровне 36 случаев на 100 тыс. населения [1-4].

Мировое фтизиатрическое сообщество обращает внимание на возникновение туберкулеза у лиц с сопутствующей ВИЧ инфекцией и хронической неспецифической воспалительной патологией легких [5, 6, 7]. Курение, алкоголизм, рецидивирующие острые респираторные воспалительные заболевания, снижение иммунитета, социально-экономические условия остаются общим фактором риска для туберкулеза и хронического бронхита [5]. Назначая антимикобактериальную терапию, необходимо устранять факторы, приводящие к заболеванию.

В легких, пораженных микобактерией туберкулеза, возникают патогенетические и самогенетические изменения иммунитета, которые замедляют регрессию данных нарушений в легочной ткани и формирование фиброза [5, 6, 8-11]. Эти процессы ведут к нарушению системы местной защиты и к нарастанию гипоксии ткани. Известно, что базальные мембраны характеризуются механической стабильностью и нерас-

творимостью благодаря коллагену IV типа. По литературным данным, имеются сведения о роли данного белка в механизме снижения системы местной защиты легких и прогрессировании туберкулезного процесса [11].

По данным исследований Кужко М.М. (2012) и Авдеева С.Н. (2008), в стандартной схеме лечения туберкулеза легких целесообразно назначать иммуномодуляторы, которые повышают эффективность лечения активного туберкулеза [10, 12].

Одним из таких препаратов является иммуномодулятор природного происхождения глюкозаминилмурамилпентапептид с широким спектром действия. Он представляет собой фрагменты клеточной стенки лактобактерий, стимулирует функцию макрофагов и нормализует количество Т-лимфоцитов. Глюкозаминилмурамилпентапептид активирует клетки моноцитарно-макрофагального ряда, фагоцитоз, повышает активность лизосомальных ферментов, продукцию активных форм кислорода, усиливает цитотоксический эффект макрофагов. Препарат усиливает синтез цитокинов, в частности ИЛ-6, а также повышает цитотоксическую активность естественных клеток-киллеров (NK).

Материал и методы

Изучена эффективность использования иммуномодулятора глюкозаминилмурамилпентапептид (Лиастен, «Энзим» Винница, Украина) у больных инфильтративным туберкулезом в сочетании с хроническим бронхитом. Формулировку диагноза инфильтративного туберкулеза проводили согласно материалам приказа МЗ Украины № 731 от 16.08.2013 г. и № 620 от 04.09.2014 г. «Об утверждении унифицированного клинического протокола первичной, вторичной (специализированной) и третичной (высокоспециализиро-

ванной) медицинской помощи «Туберкулез» [13, 14]. Диагноз хронического бронхита определяли на основании Международной статистической классификации болезней и проблем здоровья X, клинических и физикально-инструментальных признаков (продуктивный кашель не менее 3-х месяцев в году в течение 2-х и более лет, наличие в фазе обострения сухих хрипов, анамнестически 2-3 обострения в год в течение последних 2 лет, рентгенологические признаки: утолщение стенок бронхов и пневмосклероз). Было обследовано 40 больных с инфильтративным туберкулезом в сочетании с хроническим бронхитом: I группа (сравнения) – 18 больных, получавших базовую терапию согласно I категории (согласно приказа МЗ Украины № 731 от 16.08.2013 г. и № 620 от 04.09.2014 г.); II группа (основная) – 22 больных, которым к базовой терапии был добавлен глюкозаминилмурамилпентапептид. Стандартная терапия туберкулеза легких состояла из изониазида, рифампицина, этамбутола и пиразинамида. Больным с хроническим бронхитом назначали противовоспалительную, муколитическую и бронхолитическую терапию. Контрольную группу составили 15 практически здоровых лиц без явных признаков пульмонологических заболеваний и другой патологии внутренних органов.

Первый курс лечения – глюкозаминилмурамилпентапептид получали внутримышечно в дозе 2 мг, 5 инъекций с интервалом 5 дней; через 3 месяца – второй курс продолжительностью 20 дней по 1 таблетке в дозе 2 мг 2 раза в сутки.

Уровень С-реактивного белка (СРБ) определяли полуколичественным методом латекс-агглютинации с помощью набора реактивов «Dialab» (Австрия). Для определения СРБ мы центрифугировали в течение 10 минут бронхоальвеолярное содержимое при 5000 об/мин. Для исследования отбирали надосадочную жидкость, которую титровали 0,9% раствором NaCl по содержанию общего белка.

Идентификацию коллагена IV типа в бронхоальвеолярном содержимом проводили твердофазным иммуноферментным методом с применением набора Biotrin Collagen IV EIA, основанным на однорядном «сэндвич»-иммуноферментном анализе, с использованием пары моноклональных антител, которые распознаются различными антигенными эпитопами на молекуле коллагена IV типа. Титрование бронхоальвеолярного содержимого 0,9% раствором NaCl проводили по количеству общего белка. Образцы, которые до-

бавляют в лунки микропланшетов, одновременно реагируют с антиколлаген IV моноклональными антителами, иммобилизованными в лунках микропланшетов и с антиколлаген IV моноклональными антителами, конъюгированными с ферментом, специфическим к разным антигенным детерминантам молекулы коллагена IV типа. В результате этого образуется «сэндвич» с молекулой коллагена IV типа, который находится между твердой фазой и антителами, мечеными ферментами. После удаления несвязанных меченых антител в лунки добавляется ферментный субстрат. Во время второй инкубации развивается окрашивание раствора. Активность фермента пропорциональна количеству коллагена IV типа. Концентрация коллагена IV типа в образцах определялась с помощью калибровочной кривой.

Эффективность лечения определялась клинической динамикой, уровнями С-реактивного белка и коллагена IV в бронхоальвеолярном содержимом.

Результаты и обсуждение

При развитии инфильтративного туберкулеза у больных хроническим бронхитом в фазе обострения характерными признаками являются: кашель, который наблюдался у 100,0% пациентов, причем у 82,5% больных сопровождался выделением мокроты, которая у 90,9% пациентов была слизисто-гнойного характера; субфебрильная температура; общая слабость; быстрая утомляемость; ночные поты и потеря массы тела были у 100,0% больных; одышка при обычных физических нагрузках у 72,5% пациентов; везикулярное дыхание с жестким оттенком у 92,5% пациентов; сухие одновременно свистящие и жужжащие хрипы у 92,5% пациентов. Выявленные клинические особенности инфильтративного туберкулеза на фоне хронического бронхита стали обоснованием для изучения нами активности воспалительного процесса и неоколлагенеза во время комплексного лечения.

Ряд исследований отечественных и зарубежных ученых свидетельствует о том, что одно из первых мест в патогенезе прогрессирования и недостаточной эффективности лечения болезней легких принадлежит нарушению баланса систем реактивности организма и активизации воспалительного процесса [2, 4, 5, 10, 11]. Часто они приобретают неконтролируемое со стороны макроорганизма развитие, что проявляется в сдвиге

саногенетических механизмов защиты. Оценка уровня показателей в бронхоальвеолярном содержимом проводилась с согласия у 27 пациентов: I группа (сравнения) – 11 больных, получавших базовую терапию согласно I категории; II группа (основная) – 16 больных, которым к базовой терапии было добавлено глюкозаминилмурамилпентапептид. К началу наблюдения у больных II группы верифицировано повышение уровня СРБ в бронхоальвеолярном содержимом в 5,98 раза ($p < 0,05$) и рост в 6,54 раза ($p < 0,05$) в первой группе по сравнению с практически здоровыми лицами.

У пациентов II группы уровень СРБ на 30-й день лечения составил ($6,86 \pm 0,76$) мг / л и был в 4,16 раза выше, чем в группе практически здоровых лиц ($p < 0,05$), и в 1,21 раза ниже, чем у пациентов I группы ($p < 0,05$). Мы не достигли максимального снижения уровня СРБ в бронхоальвеолярном содержимом на 150-й день лечения во II группе, но у пациентов, получавших два курса глюкозаминилмурамилпентапептида отмечено дальнейшее снижение уровня СРБ до ($2,96 \pm 0,32$) мг/л и был в 1,74 раза ниже по сравнению с показателем I группы ($p < 0,05$), но все же оставался в 1,79 раза выше показателя группы практически здоровых лиц ($p < 0,05$).

У больных с сочетанием инфильтративного туберкулеза легких и хронического бронхита к началу лечения в первой группе имеется рост уровня коллагена IV типа в 3,98 раза ($p < 0,05$) по сравнению с практически здоровыми лицами. При использовании нами стандартной схемы лечения инфильтративного туберкулеза в сочетании с хроническим бронхитом на 150-й день ле-

чения больных (I группа) уровень коллагена IV в бронхоальвеолярном содержимом имел незначительную положительную динамику (табл. 1), наблюдалось его уменьшение на 34,53% ($p < 0,05$). Однако, надо отметить, что более эффективным для нормализации показателей коллагена IV было применение глюкозаминилмурамилпентапептида при лечении сочетанной патологии (II группа). Так, на 150-й день лечения данный показатель уменьшился в 3,55 раза и составил ($10,61 \pm 1,04$) нг / мл ($p < 0,05$), что было на 42,75% лучше результата в I группе ($p < 0,05$). Однако, демонстрируя положительную динамику, уровень коллагена IV в основной группе исследования оставался в 1,12 раза выше показателей группы практически здоровых лиц ($p < 0,05$).

Установлено достоверное снижение коллагена IV типа у пациентов, получавших глюкозаминилмурамилпентапептид вместе со стандартной схемой лечения. Как известно, в здоровых легких происходят постоянные сбалансированные процессы синтеза и разрушения коллагена, обеспечивающие нормальное строение легочной ткани. Однако при нарушении структуры легких возрастает активность образования коллагена и, соответственно, его распад. Увеличение процесса повреждения коллагена имеет значение в предотвращении образования рубцовой ткани. Учитывая эти факты, по нашему мнению, корректным был бы поиск новых лечебных программ, которые повлияли бы на восстановление баланса коллагена IV типа в пределах нормы, благодаря уменьшению проявлений локального воспаления, а соответственно, и снижение проявлений гипоксии, что приводит к нарушению

Динамика уровня коллагена IV типа (нг/мл) и С-реактивного белка (мг/л) в бронхоальвеолярном содержимом в процессе лечения больных инфильтративным туберкулезом в сочетании с хроническим бронхитом, ($M \pm m$)

Показатели	ПЗЛ, n=15	I группа, n=11			II группа, n=16			p1	p2	p3
		До лечения	30 дней лечения	150 дней лечения	До лечения	30 дней лечения	150 дней лечения			
Коллаген IV типа (нг/мл)	$9,52 \pm 1,17$	$37,91 \pm 2,42$	$32,76 \pm 2,53$	$24,82 \pm 1,74$	$37,64 \pm 2,6$	$24,5 \pm 1,72$	$10,61 \pm 1,04$	$<0,05$	$<0,05$	$<0,05$
С-реактивный белок (мг/л)	$1,65 \pm 0,11$	$10,79 \pm 0,71$	$8,31 \pm 0,64$	$5,16 \pm 0,44$	$9,86 \pm 1,04$	$6,86 \pm 0,76$	$2,96 \pm 0,32$	$<0,05$	$<0,05$	$<0,05$

Примечания: p1 – достоверность разницы параметров между группами исследования и практически здоровыми лицами; p2 – достоверность различий между показателями до лечения и после проведенного лечения; p3 – достоверность разницы показателей между группами исследования.

синтеза коллагена. Также следует отметить, что коррекция уровня показателя системного воспаления С-реактивного белка при комплексном лечении с глюкозаминилмурамилпентапептидом имела больший эффект по сравнению с терапией, где данный препарат не использовался, что свидетельствует о снижении активности системного воспаления. На наш взгляд, глюкозаминилмурамилпентапептид через доказанный эффект активации клеток фагоцитарной системы приводит к стимуляции синтеза цитокинов (ИЛ-6, TNF- α) [9, 10], который в свою очередь повышает цитотоксическую активность макрофагов, естественных киллеров и Т-лимфоцитов, активирует процессы дифференциации плазмоцитов и синтеза иммуноглобулинов, в комплексе оказывает положительное влияние на саногенетические процессы ликвидации негативных последствий как хронического бронхита, так и инфильтративного туберкулеза.

Заключение

1. У больных с сочетанием инфильтративного туберкулеза легких и хронического бронхита имеется повышение уровня СРБ в бронхоальвеолярном содержимом в 6,54 раза ($p1<0,05$) и повышение уровня коллагена IV типа в 3,98 раза ($p1<0,05$) по сравнению с практически здоровыми лицами.

2. У пациентов с инфильтративным туберкулезом в сочетании с хроническим бронхитом на 150-й день стандартной схемы лечения наблюдалось снижение показателей СРБ в 2,09 раза и снижение уровня коллагена IV типа в 1,53 раза по сравнению с показателями до лечения ($p2<0,05$).

3. Использование глюкозаминилмурамилпентапептида в комплексной терапии инфильтративного туберкулеза в сочетании с хроническим бронхитом приводит к уменьшению в бронхоальвеолярном содержимом показателей СРБ в 3,33 раза и коллагена IV типа в 3,55 раза по сравнению с показателями до лечения ($p2<0,05$).

Литература

1. Туберкулез в Украине : (аналитико-статист. справ.) / МОЗ Украины ; под ред. Н. Н. Низова, М. В. Голубчикова. – Киев, 2016. – 38 с.
2. Фещенко, Ю. И. Контроль за туберкулезом в Украине на современном этапе / Ю. И. Фещенко, С. А. Черенко // Туберкулез, легочные болезни, ВИЧ-инфекция. – 2010. – № 3. – С. 5–13.
3. Особенности современной ситуации по туберкулезу в Украине / Ю. И. Фещенко [и др.] // Укр. пульмонолог. журн. – 2016. – № 1. – С. 5–9
4. Доклад о глобальной борьбе с туберкулезом 2016 год [Электронный ресурс] / Всемирная Организация Здравоохранения. – Режим доступа: http://www.who.int/tb/publications/global_report/gtbr2016_executive_summary_ru.pdf?ua=1. – Дата доступа: 04.04.2017.
5. Диагностика ранней стадии хронического бронхита у больных туберкулезом легких : метод. рек. / Н. Н. Кужко [и др.]. – Киев, 2003. – 16 с.
6. Мониторинг и оценка индикаторов диагностики и лечения больных когортного анализа : метод. пособие для мед. работников лечебно-профилактич. учреждений противотуберкулез. службы и общей мед. сети / Ю. И. Фещенко [и др.]. – Киев, 2006. – 81 с.
7. Новожилова, И. А. Патоморфоз бронхолегочных изменений у больных с туберкулезом органов дыхания / И. А. Новожилова // Укр. пульмонолог. журн. – 2007. – № 4. – С. 24–28.
8. Возианов, А. Ф. Цитокины. Биологические и противоопухолевые свойства / А. Ф. Возианов, А. К. Бутенко, К. П. Зак. – Киев : Наукова думка, 1998. – 319 с.
9. Зайков, С. В. Эффективность лечения больных с впервые диагностированным деструктивным туберкулезом легких при использовании иммуномодулятора мурамилпептидного ряда / С. В. Зайков, О. В. Пликанчук // Лекарство Украины. – 2009. – № 3. – С. 85–87.
10. Влияние цитокинов на модуляцию моноклональных антител крови у больных с впервые диагностированным туберкулезом легких / Н. Н. Кужко [и др.] // Туберкулез, легочные болезни, ВИЧ-инфекция. – 2012. – № 3. – С. 29–32.
11. Procollagen III N-terminal propeptide and desmosine are released by matrix destruction in pulmonary tuberculosis / J. Seddon [et al.] // J. Infect. Dis. – 2013 Nov. – Vol. 208, N 10. – P. 1571–1579.
12. Авдеев, С. Н. С-реактивный белок – новый или старый маркер бронхолегочных инфекций? / С. Н. Авдеев, А. Е. Баймаканова // Атмосфера. Пульмонология и аллергология. – 2008. – № 4. – С. 26–32.
13. О внесении изменений в Положения клинического протокола первичной, вторичной (специализированной) и третичной (высокоспециализированной) медицинской помощи «Туберкулез» : приказ МОЗ Украины № 731 от 16.08.2013 [Электронный ресурс]. – Режим доступа: http://www.moz.gov.ua/ua/portal/dn_20130816_0731.html. – Дата доступа: 05.04.2017.
14. Об утверждении и внедрении медико-технологических документов по стандартизации медицинской помощи при туберкулезе : приказ МОЗ Украины № 620 от 04.09.2014 [Электронный ресурс]. – Режим доступа: http://www.moz.gov.ua/ua/portal/dn_20140904_0620.html. – Дата доступа: 05.04.2017.

Поступила 26.12.2016 г.

Принята в печать 04.04.2017 г.

References

1. MOZ Ukrainy; Nizov NN, Golubchikov MV, red. Tuberculosis in Ukraine: (analitiko-statist sprav). Kyiv, Ukraine; 2016. 38 p. (In Russ.)
2. Feshchenko YuI, Cheren'ko SA. Control of tuberculosis in Ukraine at the present stage. *Tuberkulez Legochnye Bolezni VICH-infektsiia*. 2010;(3):5-13. (In Russ.)
3. Feshchenko YuI, Mel'nik VM, Zaykov SV, Veselovskiy LV, Linnik MI. Features of a modern situation on tuberculosis in Ukraine. *Ukr Pul'monol Zhurn*. 2016;(1):5-9. (In Russ.)
4. Vsemirnaia Organizatsiia Zdravookhraneniia. Report on global fight against tuberculosis 2016 [Elektronnyi resurs]. Rezhim dostupa: http://www.who.int/tb/publications/global_report/gtbr2016_executive_summary_ru.pdf?ua=1. Data dostupa: 04.04.2017. (In Russ.)
5. Kuzhko NN, Kurilo SM, Protsik LM, Podgaevskiy SG, Gul'chuk NM, Zagaba LM, i dr. Diagnostics of an early stage of chronic bronchitis at suffering from tuberculosis lungs: metod rek. Kyiv, Ukraine; 2003. 16 p. (In Russ.)
6. Feshchenko YuI, Mel'nik VM, Smetanina OR, Dadu A. Monitoring and assessment of indicators of diagnostics and treatment of patients of the kogortny analysis: metod posobie dlia med rabotnikov lechebno-profilakt uchrezhdenii protivotuberkulez sluzhby i obshechi med seti. Kyiv, Ukraine; 2006. 81 p. (In Russ.)
7. Novozhilova IA. Pathomorphism of bronchopulmonary changes at patients with tuberculosis of respiratory organs. *Ukr Pul'monol Zhurn*. 2007;(4):24-8. (In Russ.)
8. Vozianov AF, Butenko AK, Zak KP. Cytokines. Biological and antitumoral properties. Kiev, Ukraine: Naukova dumka; 1998. 319 p. (In Russ.)
9. Zaykov SV, Plikanchuk OV. Efficiency of treatment of patients with for the first time the diagnosed destructive pulmonary tuberculosis when using an immunomodulator of a muramylpeptidny series. *Lekarstvo Ukrainy*. 2009;(3):85-7. (In Russ.)
10. Kuzhko MM, Butov DA, Stepanenko AL, Grinishina EA, Maksimenko OA. Influence of cytokines on modulation of monoclonal antibodies of a blood at patients with for the first time the diagnosed pulmonary tuberculosis. *Tuberkulez Legochnye Bolezni VICH-infektsiia*. 2012;(3):29-32. (In Russ.)
11. Seddon J, Kasprovicz V, Walker NF, Yuen HM, Sunpath H, Tezera L, et al. Procollagen III N-terminal propeptide and desmosine are released by matrix destruction in pulmonary tuberculosis. *J Infect Dis*. 2013 Nov 15;208(10):1571-9. doi: 10.1093/infdis/jit343
12. Avdeev SN, Baymakanova AE. S-reactive protein – a new or old marker of bronchopulmonary infections? *Atmosfera Pul'monologii Allergologii*. 2008;(4):26-32. (In Russ.)
13. About introduction of amendments to Provisions of the clinical protocol of primary, secondary (specialized) and tertiary (highly specialized) medical care «Tuberculosis»: prikaz MOZ Ukrainy № 731 ot 16.08.2013 [Elektronnyi resurs]. Rezhim dostupa: http://www.moz.gov.ua/ua/portal/dn_20130816_0731.html. Data dostupa: 05.04.2017. (In Russ.)
14. About the statement and introduction of medico-technological documents on standardization of a medical care at tuberculosis: prikaz MOZ Ukrainy № 620 ot 04.09.2014 [Elektronnyi resurs]. Rezhim dostupa: http://www.moz.gov.ua/ua/portal/dn_20140904_0620.html. Data dostupa: 05.04.2017. (In Russ.)

Submitted 26.12.2016

Accepted 04.04.2017

Сведения об авторах:

Мельник-Шеремета О.П. – магистр медицины, ассистент кафедры фтизиатрии и пульмонологии с курсом профессиональных болезней, Ивано-Франковский национальный медицинский университет, Украина;
Островский Н.Н. – д.м.н., профессор, заведующий кафедрой фтизиатрии и пульмонологии с курсом профессиональных болезней, Ивано-Франковский национальный медицинский университет, Украина.

Information about authors:

Melnik-Sheremeta O.P. – Master of Medical Sciences, teacher of the Chair of Phthisiology and Pulmonology with the course of Occupational Diseases, Ivano-Frankovsk National Medical University, Ukraine;
Ostrovsky N.N. – Doctor of Medical Sciences, professor, head of the Chair of Phthisiology and Pulmonology with the course of Occupational Diseases, Ivano-Frankovsk National Medical University, Ukraine.

Адрес для корреспонденции: Украина, 76010, г. Ивано-Франковск, ул. Пивденный Бульвар, д. 42, кв. 110. E-mail: Melnyk_O.P@i.ua – Мельник-Шеремета Ольга Петровна.

Correspondence address: Ukraine, 76010, Ivano-Frankovsk, 42 Pivdenny Bulvar str., 110. E-mail: Melnyk_O.P@i.ua – Olga P. Melnik-Sheremeta.

ТИРЕОИДНЫЙ СТАТУС И СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ УСТОЙЧИВОСТЬ ТВЕРДЫХ ТКАНЕЙ ЗУБА

МАСЮК Н.Ю., ГОРОДЕЦКАЯ И.В.

Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет, г. Витебск,
Республика Беларусь

Вестник ВГМУ. – 2017. – Том 16, №2. – С. 97-105.

THYROID STATUS AND STRUCTURAL AND FUNCTIONAL RESISTANCE OF HARD DENTAL TISSUES

MASYUK N.Y., GORODETSKAYA I.V.

Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University, Vitebsk, Republic of Belarus

Vestnik VGMU. 2017;16(2):97-105.

Резюме.

Цель – изучить влияние йодсодержащих гормонов щитовидной железы в формировании устойчивости эмали зубов животных, получавших кариесогенную диету, подвергнутых стрессу и сочетанию указанных воздействий, и раскрыть его механизмы.

Материал и методы. Работа проведена на 130 беспородных крысах-самцах. Группы: животные (1) содержались на диете Стефана в течение 60 суток, (2) находились в условиях скученного содержания (по 40 особей в клетке в течение первого месяца, по 30 – второго) и (3) комбинированного воздействия обоих факторов. Для моделирования гипопаратиреоза крысам внутривенно в 1% крахмальном клейстере вводили тиреостатик мерказолил: в течение первых 30 дней в дозе 25 мг/кг, в последующие 30 суток – в половинной дозе. Введение L-тироксина осуществляли аналогичным образом в близких к физиологическим дозах: в течение 28 дней в дозах от 1,5 до 3,0 мкг/кг, затем в дозе 1,5 мкг/кг до окончания эксперимента. Структурно-функциональную устойчивость твердых тканей зуба определяли с помощью теста эмалевой резистентности. Реминерализационную способность слюны оценивали по её минерализующему потенциалу и по типу микрокристаллизации.

Результаты. Доказано, что гипотиреоз снижает, а малые дозы L-тироксина увеличивают резистентность эмали при воздействии кариесогенной диеты, стресса и их комбинации.

Выводы. Зависимость структурно-функциональной устойчивости твердых тканей зуба от йодсодержащих тиреоидных гормонов связана с их влиянием на минерализующие свойства слюны (уменьшение при гипотиреозе, нормализация под влиянием L-тироксина) и ее микрокристаллизацию (нарушение при гипопаратиреозе, улучшение под воздействием близких к физиологическим доз L-тироксина).

Ключевые слова: йодсодержащие тиреоидные гормоны, стресс, резистентность, слюна, микрокристаллизация.

Abstract.

Objectives. To study the effect of iodine-containing thyroid hormones on the enamel resistance of the teeth of animals maintained on the cariogenic diet, subjected to stress and the combination of the indicated influences, as well as to estimate its mechanisms.

Material and methods. The study was performed on 130 mongrel male rats. There were groups of animals kept (1) on the diet of Stephen during 60 days, (2) in the overcrowded conditions (40 animals in the cage during the first month and 30 animals in the cage during the second one), (3) under the conditions of the combination of both factors influence. To simulate hypothyroidism thyreostatic mercaptozole was administered to rats intragastrically in 1% starch paste: during the first 30 days in the dose of 25 mg / kg, during the next 30 days in the half dose. The introduction of L-thyroxine was performed in the same way in the close to physiological doses: from 1,5 to 3,0 mcg / kg during 28 days, then in the dose of 1,5 mcg / kg till the end of the experiment. Structural and functional stability of the hard dental tissues was estimated with the help of the enamel resistance test. The remineralization capacity of the saliva was assessed by its mineralizing

potential and by the type of microcrystallization.

Results. It has been proved that hypothyroidism reduces the body's resistance to stress, the small doses of L-thyroxin increase the resistance of the enamel under the influence of the cariogenic diet, stress, and their combination.

Conclusions. The dependence of structural and functional resistance of hard dental tissues on the iodine-containing thyroid hormones is connected with their influence on the mineralizing properties of the saliva (the decrease in hypothyroidism, and normalization under the influence of L-thyroxin) and its microcrystallization (the disturbance in hypothyroidism, the improvement under the action of the close to physiological doses of L-thyroxin).

Key words: iodine-containing thyroid hormones, stress, resistance, saliva, microcrystallization.

Нарушение структурно-функциональной устойчивости твердых тканей зуба вносит существенный вклад в развитие кариозного процесса [1]. Оно наблюдается при стрессе [2], эндокринной патологии, в частности при дисфункции щитовидной железы [3]. Возможным механизмом снижения структурно-функциональной устойчивости эмали и дентина в этих условиях является нарушение реминерализующей способности слюны [4, 5]. Ранее нами установлено, что резистентность твердых тканей зуба к кариесогенному воздействию коррелирует с тиреоидным статусом организма [6]. Цель настоящего исследования – определение значения йодсодержащих гормонов щитовидной железы в формировании устойчивости эмали и дентина к воздействию кариесогенной диеты, стресса и их сочетания, а также раскрытие его механизмов.

Материал и методы

Эксперимент проведен на 130 беспородных белых крысах-самцах, масса которых в начале эксперимента составляла 30-40 г. Животных исследовали, начиная с 21 дня жизни. Крысы были разделены на 13 групп, каждая из которых состояла из 10 особей: 1 – интактная, 2 – контрольная, 3 – кариесогенная диета (КГД), 4 – стресс, 5 – КГД + стресс, 6 – мерказолил, 7 – мерказолил + КГД, 8 – мерказолил + стресс, 9 – мерказолил + КГД + стресс, 10 – тироксин, 11 – тироксин + КГД, 12 – тироксин + стресс, 13 – тироксин + КГД + стресс. В качестве кариесогенной диеты использовали рацион Стефана [7] в течение 2 месяцев. С целью моделирования стресса применяли скученное содержание животных в стандартных пластиковых клетках размером 20х30х40 см в течение 60 дней (по 40 особей в клетке первый месяц, по 30 – второй) [8]. Для формирования гипотиреоза крысам интрагастрально вводили тиреостатик мерказолил (рег. номер РК-ЛС-5№014157) в 1% крахмальном клейстере (25 мг/кг в течение

1 месяца, затем в половинной дозе – до окончания эксперимента). L-тироксин (рег. номер П №008964) вводили таким же образом (от 1,5 до 3,0 мкг/кг в течение 28 дней, затем 1,5 мкг/кг). Контрольным крысам, а также подвергнутым стрессу, содержанию на КГД, отдельному или комбинированному с краудинг-стрессом, таким же способом вводили 1% крахмальный клейстер. Структурно-функциональную устойчивость эмали изучали с помощью теста эмалевой резистентности (ТЭР), выполняемого на вестибулярной поверхности центрального резца (левого или правого) с использованием метиленового синего. Интенсивность окрашивания эмали оценивали по стандартной 10-балльной шкале. Чем больше величина ТЭР, тем меньше резистентность твердых тканей зуба. При значении ТЭР 1-3 балла делали вывод о высокой резистентности эмали, 4-5 баллов – о средней, 6-7 баллов – о пониженной, 8-10 баллов – о крайне низкой [9].

Для раскрытия механизмов влияния тиреоидного статуса на устойчивость эмали и дентина определяли тип микрокристаллизации слюны (МКС), ее минерализующий потенциал (МПС). Слюноотделение стимулировали введением пилокарпина (внутрибрюшинно 0,5 мг/кг). Для определения МКС и МПС на предметное стекло наносили 3 капли слюны. Их высушивали и исследовали под микроскопом Leica при малом увеличении. Тип МКС оценивали по характеру рисунка кристаллов: I – кристаллы призматической, удлиненной формы, их структура хорошо выражена; II – кристаллы небольших размеров, не имеют четкой пространственной ориентации; III – большое количество аморфных структур, единичные мелкие кристаллы. МПС выражали в баллах: 0 баллов – отсутствие кристаллических структур, 1 балл – хаотически расположенные структуры неправильной формы, 2 балла – тонкая сетка линий, 3 балла – отдельные небольшие кристаллы на фоне сетки, 4 балла – древовидная структура кристаллов средних размеров, 5

баллов – крупные кристаллы, напоминающие папоротник. Для каждой крысы вычисляли среднее значение баллов, установленных в 3 каплях. МПС оценивали следующим образом: от 0,0 до 1,0 балла – очень низкий, от 1,1 до 2,0 – низкий, от 2,1 до 3,0 – удовлетворительный, от 3,1 до 4,0 – высокий, от 4,1 до 5,0 – очень высокий [10].

Животных выводили из эксперимента путем декапитации под уретановым наркозом (1 г/кг массы тела). Экспериментальное исследование проведено с разрешения комиссии по биоэтике.

Полученные данные были обработаны статистически с использованием программы Statistica 6.0 (StatSoft inc.), лицензия № 10996172. После первоначального определения характера распределения признака (Shapiro-Wilk, s test), было установлено, что оно отличалось от нормального, поэтому были использованы непараметрические методы. Исследуемые группы являлись независимыми, поэтому количественные признаки при межгрупповом сравнении изучали с помощью однофакторного дисперсионного анализа – медианного теста и метода ANOVA Краскелла-Уоллиса с последующим применением критерия Манна-Уитни. Данные по ТЭР и МПС представляли в виде медианы (Me) и границ доверительного интервала для нее (-95%; +95%), по распределению типов МКС – в процентах.

Результаты

Содержание животных на КГД привело к возрастанию значения ТЭР в 3 раза ($p<0,001$), что свидетельствует о снижении структурно-функциональной устойчивости твердых тканей зуба в этих условиях (табл. 1). Основа обнаруженных изменений: ухудшение минерализационных свойств слюны, на что указывает уменьшение величины МПС в 1,67 раза ($p<0,01$) (табл. 1); изменение распределения типов МКС: число крыс с I типом по сравнению с контролем снизилось на 50% – до 10%, со II, напротив, возросло на 40% – до 80%, у 10% животных появился III тип, не наблюдавшийся в контроле (рис. 1). Следовательно, примененная нами диета вызывает падение уровня устойчивости твердых тканей зуба, обусловленное падением минерализующей способности слюны.

Краудинг-стресс также спровоцировал увеличение значения ТЭР, однако в меньшей степени, – в 2 раза ($p<0,05$). Его величина указывает на средний уровень резистентности эмали. Данные

нарушения были связаны с уменьшением МПС – в 1,25 раза ($p<0,05$), изменением распределения типов кристаллизации: количество крыс, у которых наблюдался I тип, упало на 40% и составило 20%, II тип – возросло на 40% и было равно 80%. По сравнению с животными, получавшими КГД, показатель ТЭР был ниже в 1,5 раза ($p<0,01$), МПС хотя и был таким же ($p>0,05$), однако отсутствовали животные с III типом МКС, а крыс с I типом было больше – на 10%. Следовательно, скудное содержание животных провоцирует меньшее, чем КГД, снижение устойчивости эмали за счет менее выраженного изменения минерализующих свойств слюны.

Комбинированное влияние стресса и КГД привело к наиболее существенному увеличению значения ТЭР – в 4 раза ($p<0,001$), что соответствует крайне низкому уровню устойчивости эмали. Это было обусловлено наибольшим уменьшением величины МПС – в 2,22 раза ($p<0,001$), ухудшением распределения типов МКС: животных с I типом не наблюдалось, количество крыс со II типом увеличилось на 10% и стало равным 50%, у 50% появился III тип. По отношению к значению ТЭР у животных, получавших КГД, оно было выше в 1,33 раза ($p<0,05$) за счет большего падения величины МПС – в 1,33 раза ($p<0,05$) и большего изменения распределения типов МКС: отсутствовал I тип, число крыс со II типом было ниже на 30%, а с III, наоборот, выше – на 40%. По сравнению с животными, находившимися в условиях стресса, значение ТЭР было больше в 2 раза ($p<0,001$), что обусловлено меньшей величиной МПС – в 1,78 раза ($p<0,001$) и большим ухудшением МКС: количество животных со II типом МКС было на 30% ниже, наблюдался III тип МКС, и, напротив, отсутствовал I тип. Следовательно, краудинг-стресс усугубляет вызванное кариесогенным рационом снижение устойчивости твердых тканей зуба за счет более выраженного нарушения реминерализующих сил слюны.

Введение мерказолила вызвало падение устойчивости эмали до среднего уровня: величина ТЭР увеличилась в 2 раза ($p<0,05$) (табл. 1). Это было обусловлено уменьшением значения МПС – в 1,43 раза ($p<0,01$) (табл. 1), изменением распределения типов МКС: число животных с I типом уменьшилось на 50% и составило 10%, тогда как со II, наоборот, увеличилось на 50% – до 90% (рис. 1). Следовательно, гипотиреоз *per se* вызывает снижение структурно-функциональной

Таблица 1 – Влияние йодсодержащих гормонов щитовидной железы на устойчивость эмали и минерализующий потенциал слюны крыс, получавших кариесогенный рацион, содержащихся в условиях краудинг-стресса, и при комбинировании указанных воздействий

Группа животных	ТЭР, баллы	МПС, баллы
1. Интактная	1,5 (1,0; 3,0)	3,50 (2,67; 4,00)
2. Контроль	2,0 (1,0; 3,0)	3,33 (2,67; 4,33)
p 1-2	p>0,05	p>0,05
3. КГД	6,0 (5,0; 7,0)	2,00 (1,67; 3,00)
p 2-3	p<0,001	p<0,01
4. Стресс	4,0 (2,0; 5,0)	2,67 (2,33; 3,33)
p 2-4	p<0,05	p<0,05
p 3-4	p<0,01	p>0,05
5. КГД + стресс	8,0 (7,0; 9,0)	1,50 (1,33; 2,33)
p 2-5	p<0,001	p<0,001
p 3-5	p<0,05	p<0,05
p 4-5	p<0,001	p<0,001
6. Мерказолил	4,0 (2,0; 5,0)	2,33 (2,00; 3,00)
p 2-6	p<0,05	p<0,01
7. Мерказолил + КГД	8,0 (6,0; 9,0)	1,50 (1,33; 2,33)
p 6-7	p<0,001	p<0,05
p 2-7	p<0,001	p<0,001
p 3-7	p<0,05	p<0,05
8. Мерказолил + стресс	6,0 (5,0; 7,0)	1,84 (1,33; 2,33)
p 6-8	p<0,01	p<0,05
p 2-8	p<0,001	p<0,001
p 7-8	p<0,05	p>0,05
p 4-8	p<0,01	p<0,01
9. Мерказолил + КГД + стресс	9,0 (8,0; 10,0)	1,00 (0,67; 2,00)
p 6-9	p<0,001	p<0,001
p 2-9	p<0,001	p<0,001
p 7-9	p<0,05	p>0,05
p 8-9	p<0,001	p<0,05
p 5-9	p<0,05	p<0,05
10. L-тироксин	1,5 (1,0; 3,0)	3,84 (3,00; 4,33)
p 2-10	p>0,05	p>0,05
11. L-тироксин + КГД	4,0 (3,0; 5,0)	2,67 (2,33; 3,33)
p 10-11	p<0,01	p<0,01
p 2-11	p<0,01	p<0,05
p 3-11	p<0,01	p<0,05
12. L-тироксин + стресс	2,0 (1,0; 3,0)	3,67 (2,67; 4,00)
p 10-12	p>0,05	p>0,05
p 2-12	p>0,05	p>0,05
p 11-12	p<0,01	p<0,05
p 4-12	p<0,05	p<0,05
13. L-тироксин + КГД + стресс	5,5 (4,0; 6,0)	2,33 (1,67; 3,00)
p 10-13	p<0,001	p<0,001
p 2-13	p<0,001	p<0,01
p 11-13	p<0,05	p>0,05
p 12-13	p<0,001	p<0,01
p 5-13	p<0,01	p<0,05

Примечание: p – обозначение статистической значимости различий.

устойчивости твердых тканей зуба за счет ухудшения минерализующей способности слюны.

КГД у гипотиреоидных животных, как и эутиреоидных, характеризовалась повышением

ТЭР, однако более выраженным: по сравнению с его значением в группе «Мерказолил» – в 2 раза (p<0,001), что характеризует степень структурно-функциональной устойчивости как крайне

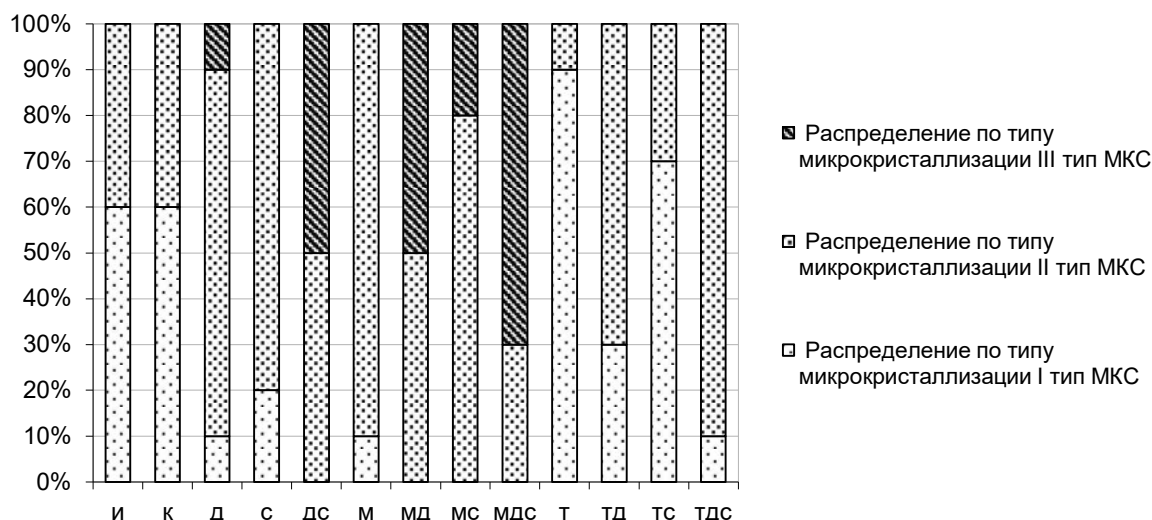


Рисунок 1 – Влияние йодсодержащих тиреоидных гормонов на распределение типов микрокристаллизации слюны крыс, находившихся на кариесогенной диете, в условиях стресса и их сочетания в группах животных:

и – интактная; к – контроль; д – кариесогенная диета; с – стресс; дс – кариесогенная диета + стресс;
 м – мерказолил; мд – мерказолил + кариесогенная диета; мс – мерказолил + стресс;
 мдс – мерказолил + кариесогенная диета + стресс; т – тироксин; тд – тироксин + кариесогенная диета;
 тс – тироксин + стресс; тдс – тироксин + кариесогенная диета + стресс.

низкую. Учитывая увеличение значения ТЭР, вызванное самим мерказолилом, он был выше, чем в группе «КГД», в 1,33 раза ($p < 0,05$). Указанные нарушения определялись большим уменьшением реминерализующей силы слюны: по отношению к группе «Мерказолил» МПС упал в 1,55 раза ($p < 0,05$), что, принимая во внимание снижение, спровоцированное самим тиреостатиком, определило в 1,33 раза меньшую величину МПС по сравнению с группой «КГД» ($p < 0,05$). В отличие от группы «Мерказолил» I тип МКС не наблюдался, число животных со II типом уменьшилось на 40% и составило 50%, у 50% крыс появился III тип. По сравнению с таковыми в группе «КГД» не было I типа МКС, количество животных, имеющих II тип, было на 30% меньше, с III, напротив, на 40% больше. Следовательно, угнетение функции щитовидной железы усугубляет падение резистентности твердых тканей зуба, вызванное КГД, за счет большего нарушения реминерализующей способности слюны.

Стресс у гипотиреоидных крыс, как и эутиреоидных, приводил к увеличению значения ТЭР, но более существенному. По отношению к таковому в группе «Мерказолил» этот показатель увеличился в 1,5 раза ($p < 0,01$), что указывает на пониженный уровень устойчивости твердых тканей зуба. Учитывая повышение ТЭР, вызванное введением тиреостатика, он был больше по

сравнению с его значением у эутиреоидных животных, находившихся в аналогичных условиях, в 1,5 раза ($p < 0,01$). Описанные нарушения были вызваны падением МПС: по отношению к этому показателю в группе «Мерказолил» – в 1,27 раза ($p < 0,05$) и ухудшением распределения типов МКС: по сравнению с таковым в группе «Мерказолил» отсутствовал I тип МКС, число крыс со II типом уменьшилось на 10% и стало равным 80%, у 20% крыс был обнаружен III тип. В отличие от аналогичных параметров у эутиреоидных стрессированных животных величина МПС была в 1,45 раза ниже ($p < 0,01$), не было I типа МКС и появился III тип. Следовательно, гипопункция щитовидной железы способствует большему падению резистентности эмали в условиях крайнего стресса за счет более существенного нарушения реминерализующих свойств слюны. Как и у эутиреоидных животных, у гипотиреоидных стресс вызывал меньшее падение структурно-функциональной устойчивости эмали, поэтому по отношению к таковому в группе «Мерказолил + КГД» ТЭР был в 1,33 раза ($p < 0,05$) ниже. Это связано с тем, что МПС хотя и был по сравнению с его значением в группе «Мерказолил + КГД» таким же ($p > 0,05$), но число крыс, имевших II тип МКС было больше, а III тип – меньше на 30%.

Одновременное воздействие КГД и стресса у гипотиреоидных крыс характеризовалось

наибольшим повышением величины ТЭР: по сравнению с группой «Мерказолил» – в 2,25 раза ($p<0,001$), что свидетельствует о крайне низком уровне устойчивости твердых тканей зуба. Учитывая возрастание ТЭР, вызванное тиреостатиком, он был в 1,13 раза выше ($p<0,05$), чем у эутиреоидных животных, получавших КГД и подвергнутых стрессу. Наблюдаемые изменения были вызваны наибольшим снижением МПС – в 2,33 раза ($p<0,001$) и наихудшим распределением типов МКС: по сравнению с группой «Мерказолил» отсутствовал I тип МКС, количество животных со II типом уменьшилось на 60% до 30%, у 70% крыс появился III тип. По отношению к исследуемым параметрам в аналогичной группе эутиреоидных животных значение МПС было в 1,50 раза ниже ($p<0,05$), количество крыс, имевших II тип МКС, было ниже, а III – выше на 20%. По сравнению со значениями ТЭР в группах «Мерказолил + КГД» и «Мерказолил + стресс» его величина в группе «Мерказолил + КГД + стресс» была выше в 1,13 ($p<0,05$) и в 1,5 раза ($p<0,001$) соответственно. Это определялось более существенными нарушениями реминерализующей силы слюны. По отношению к МПС в группе «Мерказолил + КГД» его значение было таким же ($p>0,05$), но число животных, имевших II тип МКС, было ниже, а III тип – выше на 20%. По сравнению с таковыми в группе «Мерказолил + стресс» величина МПС была меньше в 1,84 раза ($p<0,05$), количество животных со II типом МКС было меньше, а с III – больше на 50%. Следовательно, экспериментальный гипотиреоз провоцирует значительное снижение резистентности твердых тканей зуба не только при раздельном, но и при сочетанном применении КГД и стресса за счет наибольшего ухудшения минерализующих свойств слюны.

Введение крысам близких к физиологическим доз L-тироксина не сопровождалось изменением структурно-функциональной устойчивости твердых тканей зуба ($p>0,05$) (табл.1) и реминерализующей способности слюны ($p>0,05$) (рис. 1).

КГД у животных, получавших L-тироксин, как и у эутиреоидных крыс, вызвала менее существенное возрастание величины ТЭР: по сравнению с группой «L-тироксин» – в 2,67 раза ($p<0,01$). Его значение свидетельствует о среднем уровне резистентности эмали. В результате по отношению к величине ТЭР у эутиреоидных животных, получавших КГД, она была

в 1,5 раза меньше ($p<0,01$). Это определялось меньшими изменениями МПС – по сравнению с группой «L-тироксин» он уменьшился всего в 1,44 раза ($p<0,01$); менее значительным изменением распределения МКС: по отношению к группе «L-тироксин» число животных, имевших I тип МКС, снизилось на 60% и составило 30%, II тип, напротив, увеличилось на 60% – до 70%. По сравнению с такой же группой эутиреоидных крыс значение МПС было выше в 1,34 раза ($p<0,05$), количество животных с I типом МКС было на 20% больше, со II – на 10% меньше, III тип отсутствовал вовсе. Следовательно, введение малых доз L-тироксина ограничивает вызванное КГД снижение устойчивости эмали вследствие минимизации нарушения минерализующей силы слюны.

Краудинг-стресс у крыс, получавших L-тироксин, не приводил к изменению ТЭР ($p>0,05$ по сравнению с группой «L-тироксин»). Величина последнего отражает высокий уровень резистентности твердых тканей зуба. Это коррелировало с отсутствием изменения МПС ($p>0,05$ по отношению к группе «L-тироксин») и существенно меньшим изменением распределения типов МКС: количество животных с I типом снизилось всего на 20% и стало равным 70%, со II типом повысилось на 20% – до 30%. По сравнению с величиной ТЭР у эутиреоидных стрессированных крыс она была в 2 раза ниже ($p<0,05$). Это было обусловлено улучшением реминерализующих свойств слюны: значение МПС было выше, чем в группе «Стресс», в 1,37 раза ($p<0,05$), число крыс, имевших I тип МКС было больше, II – меньше на 50%. По отношению к группе «L-тироксин + КГД» структурно-функциональная устойчивость эмали была выше, вследствие чего значение ТЭР было в 2 раза меньше ($p<0,01$). В основе – меньшее нарушение минерализующих свойств слюны: по сравнению с группой «L-тироксин + КГД» МПС был в 1,37 раза выше ($p<0,05$), количество крыс с I типом МКС было больше, со II – меньше на 40%. Следовательно, введение L-тироксина в дозах, близких к физиологическим, предупреждает падение резистентности эмали при краудинг-стрессе за счет лимитирования нарушения реминерализующего потенциала слюны.

Сочетанное влияние КГД и стресса на животных, получавших малые дозы L-тироксина, сопровождалось значительно меньшим, чем в таких же условиях у не получающих препарат, повыше-

нием ТЭР: по отношению к группе «L-тироксин» – в 3,67 раза ($p < 0,001$). Величина его указывает на средний уровень резистентности. По отношению к значению ТЭР в группах «L-тироксин + КГД» и «L-тироксин + стресс» оно было выше в 1,38 ($p < 0,05$) и 2,75 раза ($p < 0,001$) соответственно. По сравнению с группой «L-тироксин + КГД» МПС был таким же ($p > 0,05$), но число крыс с I типом МКС было меньше, а со II – больше на 20%. По отношению к группе «L-тироксин + стресс» величина МПС была ниже в 1,58 раза ($p < 0,01$), I тип МКС встречался реже, II тип – чаще на 60%. В основе повышения устойчивости эмали малыми дозами L-тироксина лежат менее выраженное снижение МПС – в 1,65 раза ($p < 0,001$ по сравнению с группой «L-тироксин»), меньшее изменение распределения типов МКС: количество крыс, имевших I тип, упало на 80% – до 10%, а II тип, напротив, возросло на 80% – до 90%. По отношению к величине ТЭР у эутиреоидных крыс, находившихся на кариесогенной диете и подверженных стрессу, она была в 1,45 раза меньше ($p < 0,01$) за счет меньшего нарушения свойств слюны: МПС был выше в 1,55 раза ($p < 0,05$), появился I тип МКС, число крыс со II типом было больше на 40%, III тип не наблюдался. Следовательно, введение малых доз L-тироксина лимитирует снижение резистентности твердых тканей зуба не только при раздельном, но и при сочетанном влиянии КГД и краудинг-стресса за счет ограничения нарушения минерализующих свойств слюны.

Обсуждение

Нами установлено, что структурно-функциональная устойчивость твердых тканей зуба при воздействии КГД, скученного содержания животных, а также при их комбинировании существенно зависит от тиреоидного статуса организма: экспериментальный гипотиреоз увеличивает резистентность эмали, а использование малых доз L-тироксина, напротив, снижает. В основе повышения йодсодержащими гормонами щитовидной железы устойчивости твердых тканей зуба находится обнаруженное нами их нормализующее действие на реминерализационные способности слюны, судя по ограничению под влиянием близких к физиологическим доз L-тироксина падения МПС и изменения распределения типов МКС и, напротив, усугубление указанных нарушений у животных с гипотиреозом. Могут иметь значение и установленные другими авторами механизмы

влияния йодтиронинов на факторы, провоцирующие падение устойчивости твердых тканей зуба: нарушение кальций-фосфорного обмена в слюне [11], дисбаланс активности фосфатаз [12], гипосаливация [13].

Заключение

КГД и краудинг-стресс как изолированно, так и в сочетании провоцируют падение структурно-функциональной резистентности эмали. Данные нарушения обусловлены снижением минерализующей силы слюны и ухудшением её микрокристаллизации. Стресс усугубляет уменьшение устойчивости твердых тканей зуба, вызванное КГД, за счет наибольшей стимуляции указанных механизмов альтерации. Экспериментальный гипотиреоз, сам по себе вызывающий снижение резистентности эмали, потенцирует выраженность ее угнетения в условиях всех примененных нами воздействий в результате наиболее значительной депрессии реминерализующего потенциала слюны и ухудшения распределения типов микрокристаллизации. Малые дозы L-тироксина ограничивают снижение устойчивости твердых тканей зуба, вызванное КГД, изолированным и комбинированным с краудинг-стрессом, и предупреждают его в условиях скученного содержания животных. Обнаруженный нами протекторный эффект близких к физиологическим доз L-тироксина определяется нормализацией минерализующих свойств слюны.

Литература

1. Смоляр, Н. И. Взаимосвязь кариеса постоянных зубов и резистентности эмали у детей школьного возраста / Н. И. Смоляр, Н. Л. Чухрай // *Стоматол. журн.* – 2015. – № 4. – С. 302–304.
2. Карпович, Д. И. Стоматологическая заболеваемость спортсменов, современные представления / Д. И. Карпович, А. В. Смоленский, А. В. Михайлова // *Вестн. новых мед. технологий.* – 2012. – Т. 19, № 2. – С. 55–57.
3. Venkatesh Babu, N. S. Oral health status of children suffering from thyroid disorders / N. S. Venkatesh Babu, P. B. Patel // *J. Indian Soc. Pedod. Prev. Dent.* – 2016 Apr-Jun. – Vol. 34, N 2. – P. 139–144.
4. Определение биохимического состояния слюны у школьников с различной физической нагрузкой в комплексных гигиенических исследованиях / А. О. Васильева [и др.] // *Современ. проблемы науки и образования.* – 2013. – № 5. – С. 350.
5. Бабаджанян, С. Г. Особенности развития и течения заболеваний полости рта при эндокринной патологии / С. Г. Бабаджанян, Л. Н. Казакова // *Бюл. мед. интернет-кон-*

- ференций. – 2013. – Т. 3, вып. 3. – С. 737–739.
6. Масюк, Н. Ю. Влияние тиреоидного статуса на интенсивность кариозного поражения зубов крыс при стрессе / Н. Ю. Масюк, И. В. Городецкая // Новости медико-биол. наук. – 2016. – № 3. – С. 92–93.
 7. Stephan, R. M. Location of experimental caries on different tooth surfaces in the Norway rat / R. M. Stephan, M. R. Harris // *Advances in Experimental Caries Research* / ed. R. F. Sognnaes. – Washington, 1955. – P. 47–65.
 8. Кириллов, Н. А. Гистохимическая характеристика структур лимфоидных органов крыс под действием стресса / Н. А. Кириллов, А. Т. Смородченко // Бюл. эксперим. биологии и медицины. – 1999. – Т. 127, № 2. – С. 171–173.
 9. Терехова, Т. Н. Профилактика стоматологических заболеваний : учеб. пособие для студентов вузов по специальности «Стоматология» / Т. Н. Терехова, Т. В. Попруженко. – Минск : Беларусь, 2004. – 526 с.
 10. Шаковец, Н. В. Состояние зубов и минерализующий потенциал слюны у детей с фенилкетонурией / Н. В. Шаковец, Е. В. Лихорад // *Инновации в медицине и фармации : материалы науч.-практ. конф. молодых ученых*. – Минск, 2012. – С. 128–131.
 11. Камиева, З. Р. Состояние зубочелюстной системы и особенности оказания стоматологической помощи детям с патологией щитовидной железы / З. Р. Камиева, Н. А. Камиева, Т. В. Коробкина // Вестн. Казах. Нац. мед. ун-та. – 2014. – № 5. – С. 220–224.
 12. Данилова, Л. П. Гормональная обусловленность изменений кальций-фосфорного обмена и стоматологического статуса при нарушении функции щитовидной железы / Л. П. Данилова, Е. Е. Конопля, Л. М. Кремко // Изв. НАН Беларуси. Сер. биол. наук. – 2001. – № 1. – С. 77–80.
 13. Qualitative and quantitative changes in saliva among patients with thyroid dysfunction prior to and following the treatment of the dysfunction / D. Muralidharan [et al.] // *Oral. Surg. Oral. Med. Oral. Pathol. Oral. Radiol.* – 2013 May. – Vol. 115, N 5. – P. 617–623.

Поступила 09.12.2016 г.

Принята в печать 04.04.2017 г.

References

1. Smolyar NI, Chukhray NL. The relationship of caries in permanent teeth and resistance of enamel in children of school age. *Stomatol Zhurn.* 2015;(4):302-4. (In Russ.)
2. Karpovich DI, Smolenskiy AV, Mikhaylova AV. Dental morbidity in athletes, modern ideas. *Vestn Novykh Med Tekhnologii.* 2012;19(2):55-7. (In Russ.)
3. Venkatesh Babu NS, Patel PB. Oral health status of children suffering from thyroid disorders. *J Indian Soc Pedod Prev Dent.* 2016 Apr-Jun;34(2):139-44. doi: 10.4103/0970-4388.180443
4. Vasil'yeva AO, Pavlova GV, Karavaeva TF, Vaganova NP. The biochemical status of saliva in schoolchildren with different physical activity in a comprehensive hygienic studies. *Sovremen Problemy Nauki Obrazovaniia.* 2013;(5):350. (In Russ.)
5. Babadzhanyan SG, Kazakova LN. Peculiarities of development and course of diseases of the oral cavity in endocrine pathology. *Biul Med Internet-Konferentsii.* 2013;3, вып 3;737-9. (In Russ.)
6. Masyuk NYu, Gorodetskaya IV. The influence of thyroid status on the intensity of dental caries in rats under stress. *Novosti Mediko-Biol Nauk.* 2016;(3):92-3. (In Russ.)
7. Stephan RM, Harris MR. Location of experimental caries on different tooth surfaces in the Norway rat. In: Sognnaes RF, ed. *Advances in Experimental Caries Research*. Washington; 1955. P. 47-65.
8. Kirillov NA, Smorodchenko AT. Histochemical characterization of the structures of the lymphoid organs of rats under stress. *Biul Eksperim Biologii Meditsiny.* 1999;127(2):171-3. (In Russ.)
9. Terekhova TN, Popruzhenko TV. Prevention of dental diseases: ucheb posobie dlia studentov vuzov po spetsial'nosti «Stomatologiya». Minsk, RB: Belarus'; 2004. 526 p. (In Russ.)
10. Shakovets NV, Likhovad EV. The condition of the teeth and mineralizing potential of saliva in children with phenylketonuria. V: *Innovatsii v meditsine i farmatsii: materialy nauch-prakt konf molodykh uchenykh*. Minsk, RB; 2012. P. 128-31. (In Russ.)
11. Kamieva ZR, Kamieva NA, Korobkina TV. The state of dentition and characteristics of dental care for children with pathology of the thyroid gland. *Vestn Kazakh Nats Med Un-ta.* 2014;(5):220-4. (In Russ.)
12. Danilova LP, Konoplya EE, Kremko LM. Hormonal dependence of changes in calcium-phosphorus metabolism and the dental status in violation of the functions of the thyroid gland. *Izv NAN Belarusi Ser Biol Nauk.* 2001;(1):77-80. (In Russ.)
13. Muralidharan D, Fareed N, Pradeep PV, Margabandhu S, Ramalingam K, Ajith Kumar BV. Qualitative and quantitative changes in saliva among patients with thyroid dysfunction prior to and following the treatment of the dysfunction. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol.* 2013 May;115(5):617-23. doi: 10.1016/j.oooo.2012.12.009

Submitted 09.12.2016

Accepted 04.04.2017

Сведения об авторах:

Масюк Н.Ю. – аспирант кафедры нормальной физиологии, Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет;

Городецкая И.В. – д.м.н., профессор кафедры нормальной физиологии, Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет.

Information about authors:

Masyuk N.Y. – postgraduate of the Chair of Normal Physiology, Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University;

Gorodetskaya I.V. – Doctor of Medical Sciences, professor of the Chair of Normal Physiology, Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University.

Адрес для корреспонденции: Республика Беларусь, 210023, г. Витебск, пр. Фрунзе, 27, УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет», деканат лечебного факультета. E-mail: gorodecka-iv@mail.ru – Городецкая Ирина Владимировна.

Correspondence address: Republic of Belarus, 210023, Vitebsk, 27 Frunze ave., Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University, Chair of Normal Physiology. E-mail: gorodecka-iv@mail.ru – Irina V. Gorodetskaya.

ВЫЯВЛЕНИЕ АЛЛЕРГИИ И ГИПЕРЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ К ДИОКСИДУ И НИТРИДУ ТИТАНА У ПАЦИЕНТОВ С НЕПЕРЕНОСИМОСТЬЮ СТОМАТОЛОГИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ

КАРПУК И.Ю.

Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет, г. Витебск,
Республика Беларусь

Вестник ВГМУ. – 2017. – Том 16, №2. – С. 106-112.

ALLERGY REVEALING AND SENSITIZATION TO TITANIUM DIOXIDE AND TITANIUM NITRIDE IN PATIENTS WITH INTOLERANCE TO DENTAL MATERIALS

KARPUK I.Y.

Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University, Vitebsk, Republic of Belarus

Vestnik VGMU. 2017;16(2):106-112.

Резюме.

Целью настоящего исследования явилось выявление сенсибилизации к диоксиду титана у пациентов с непереносимостью дентальных сплавов, напыленных нитридом титана.

Нами проведено обследование 47 пациентов с жалобами на непереносимость штамповано-паяных ортопедических конструкций из нержавеющей стали с нитрид-титановым напылением. Возраст пациентов варьировал от 39 до 76 лет, из них 11 мужчин и 36 женщин. Контрольную группу составили 30 практически здоровых пациентов, сопоставимых по полу и возрасту с пациентами исследуемой группы.

Установлено, что у пациентов с непереносимостью дентальных сплавов, напыленных нитридом титана, сенсибилизация к диоксиду титана выявлена по результатам диагностики, с использованием реакции алергениндуцированного повреждения лейкоцитов, у 16 (34%) пациентов, что достоверно отличалось ($p \leq 0,05$) от 3 (10%) положительных результатов у пациентов контрольной группы ($n=30$).

Найдено наличие прямой сильной корреляции ($R=0,76$; $p \leq 0,05$) между результатами выявления гиперчувствительности к TiO_2 и $Ti-Ni$, определяемой в реакции алергениндуцированного повреждения лейкоцитов, что указывает на сочетанное воздействие различных веществ на слизистую оболочку полости рта, с общим индуктором гиперчувствительности – Ti^{2+} .

Показано, что диоксид титана способен индуцировать возникновение симптомов непереносимости стоматологических материалов ввиду его широкого повсеместного употребления в косметическом производстве, пищевой и фармацевтической промышленности и постоянного воздействия этих веществ на слизистую оболочку полости рта. Проблема непереносимости дентальных сплавов, напыленных нитридом титана является комплексной. При обращении пациентов с жалобами на непереносимость необходимо собирать анамнез у пациента на предмет гиперчувствительности к диоксиду титана.

Ключевые слова: гиперчувствительность, диоксид титана, нитрид титана.

Abstract.

The purpose of the present research was to reveal sensibilization to titanium dioxide in patients with intolerance to dental alloys galvanized with titanium nitride.

We conducted an examination of 47 patients complaining of intolerance to punched-soldered orthopedic constructions from stainless steel galvanized with titanium nitride. The age of patients varied from 39 to 76 years, among them were 11 men and 36 women. The control group included 30 practically healthy subjects comparable with regard to their gender and age to patients of the studied group.

It has been established that in patients with intolerance to dental alloys, galvanized with titanium nitride, sensibilization

to titanium dioxide was revealed using diagnosing results, the reaction of allergen induced damage of leukocytes, in 16 (34%) patients that reliably differed ($p \leq 0,05$) from 3 (10%) positive results obtained in the control group ($n=30$).

We found out the existence of direct strong correlation ($R=0,76$; $p \leq 0,05$) between the results of detecting hypersensitivity to TiO_2 and Ti-Ni defined in the reaction of allergen induced damage of leukocytes, this indicates the combined influence of various substances on the oral cavity mucosa, with general hypersensitivity inductor – Ti^{2+} .

It has been shown that titanium dioxide is capable to induce the appearance of symptoms of stomatologic materials intolerance owing to its broad all-round use in cosmetic production, food and pharmaceutical industry and continuous impact of these substances on the oral cavity mucosa.

The problem of intolerance to dental alloys galvanized with titanium nitride is complex. When patients complain of intolerance, it is necessary to study them concerning their hypersensitivity to titanium dioxide.

Key words: hypersensitivity, titanium dioxide, titanium nitride.

Разработанные для стоматологического использования материалы обладают достаточной биологической совместимостью. Они соответствуют требованиям ISO 7405 1997, являются безвредными для организма человека и допущены к применению. К сожалению, соответствие материалов этим требованиям определено для здорового организма, но в отдельных случаях организм не воспринимает материал [1].

При применении материалов медицинского назначения, которые длительное время находятся в контакте с жидкостями и тканями организма, могут оказывать значимые негативные воздействия по различным механизмам.

Сплавы из-за электрохимического взаимодействия между собой, а также – с диффузными остатками сплавов, и из-за электрохимических процессов, происходящих на их поверхностях, могут подвергаться интенсивному электрохимическому растворению и, вследствие этого, оказывать негативное воздействие продуктами своего растворения (например, Ti^{2+} у пациентов с ортопедическими конструкциями, покрытыми нитридом титана) [2].

В результате растет частота явлений непереносимости на стоматологические материалы. Большая часть подобных проявлений (более 65%) вызывается дентальными сплавами, в том числе с напылением нитридом титана [2].

Нитрид титана применяется в качестве износостойкого и декоративного покрытия зубных протезов. Изделия, покрытые им, по внешнему виду не отличаются от золота, но при этом обходятся пациенту значительно дешевле, что определяет популярность ортопедических конструкций, покрытых нитридом титана. Нанесение нитрида титана производится в специальных камерах термодиффузионным методом. При высокой температуре титан и азот реагируют вблизи

поверхности покрываемого изделия и диффундируют в саму структуру металла.

Ti^{2+} может оказывать воздействие на слизистую оболочку полости рта (СОПР) в результате высвобождения и не только из дентальных сплавов, напыленных нитридом титана, но и веществ, содержащих диоксид титана [3].

Диоксид титана применяется широко во всем мире. При оценке влияния диоксида титана высказываются опасения, что его уникальная биологическая активность может вызывать проблемы для здоровья человека [4]. Учитывая, что около трети частиц диоксида титана в составе пищевых красителей находится в нанодиапазоне, организм человека подвергается значительному воздействию нанодиоксида титана через пищу [5].

При обследовании взрослых лиц с atopической бронхиальной астмой легкой и средней степени тяжести в период ремиссии, у 27% из которых отмечалась непереносимость пищевых красителей, антитела в крови к TiO_2 класса IgE обнаружены у 37,5% больных, IgG – у 29,1%, IgA – у 22,9%. Такая высокая встречаемость антител указывает на потенциальную аллергенность и астмагенность белого пищевого красителя, клеточная сенсibilизация к TiO_2 в той же группе в реакции выброса миелопероксидазы – 12,5%; в реакции аллергениндуцированного повреждения лейкоцитов – 10,4%, причем в контрольной группе антител и клеточной сенсibilизации не было обнаружено [6]. В группе больных с сердечно-сосудистыми заболеваниями с потенциально частым применением лекарственных средств, содержащих белый краситель в оболочках, IgE выявлены в 4,3%, IgA – в 13% случаев. Данные проведенного исследования у лиц, вынужденных постоянно применять ЛС в связи с хроническими заболеваниями, свидетельствуют

о том, насколько потенциально опасными могут быть пищевые красители в оболочках медикаментов [7].

Становится очевидно, что диоксид титана в зубных пастах может воздействовать на СОПР. На сегодняшний день наиболее эффективным и наименее травмирующим абразивным веществом, применяемым в технологии изготовления зубных паст, считается диоксид титана. Пасты на его основе самые дорогие и используются, в основном, людьми с очень чувствительными зубами. Такие зубные пасты отмечены словом «Sensitive». Зубные пасты Lacalut, SENSODYNE, СПЛАТ содержат диоксид титана. В образцах зубной пасты содержание диоксида титана колеблется от 0,7 до 5,6 мкг/мг [2]. Установлено, что большинство изученных лекарственных средств также содержат в своем составе диоксид титана [8]. Диоксид титана входит в состав пищевых продуктов (конфеты, леденцы и сладости, а также жевательные резинки) и оболочек лекарственных средств (практически всех) [8]. Также диоксид титана служит красителем в композиционных материалах, применяемых в стоматологии (современные композиты имеют до 40 различных оттенков) [9].

Жевательные резинки имеют наивысшую концентрацию диоксида титана и содержат около 0,12 мкг диоксида титана/мг. Самое высокое количество диоксида титана зарегистрировано в резинках с белыми оболочками, так как большая его часть (>90%) входит в состав внешней оболочки. На всех упаковках диоксид титана упоминается в качестве ингредиента [10].

Таким образом, энтеральный путь поступления диоксида титана, содержащегося в пищевых продуктах и лекарственных средствах, обуславливает его постоянный контакт с СОПР. Кроме того, на СОПР постоянно воздействует диоксид титана, содержащийся в зубных пастах и косметических средствах. Также поступление Ti^{2+} в роторную жидкость и контакт с СОПР возможно при коррозии зубных протезов, напыленных нитридом титана. Поэтому изучение гиперчувствительности к диоксиду титана у пациентов с непереносимостью дентальных сплавов, напыленных нитридом титана, является весьма актуальной биомедицинской проблемой.

Цель исследования – выявить сенсibilизацию к диоксиду титана у пациентов с непереносимостью дентальных сплавов, напыленных нитридом титана.

Материал и методы

Для решения поставленной задачи нами проведено обследование 47 пациентов, направленных в клинику кафедр общей стоматологии с курсом ортопедической стоматологии и клинической иммунологии и аллергологии с курсом ФПК и ПК УО «ВГМУ» с жалобами на непереносимость штампованно-паянных ортопедических конструкций из нержавеющей стали с нитрид-титановым напылением. Возраст пациентов варьировал от 39 до 76 лет, из них 11 мужчин и 36 женщин. Контрольную группу составили 30 практически здоровых пациентов, сопоставимых по полу и возрасту с пациентами исследуемой группы.

Критериями включения пациентов в опытную группу были следующие параметры: отсутствие острых и клинически выраженных инфекций в полости рта; наличие одной причинной ортопедической конструкции во рту пациента.

Все пациенты, включенные в исследование, дали добровольное информированное согласие на участие в работе.

Сформированные группы сопоставимы по возрастной и половой категориям.

Аллергообследование пациентов начинали с заполнения анкеты, разработанной нами, что позволило выявить детали аллергологического анамнеза, имеющего важное значение в диагностике непереносимости, отметить наличие сопутствующей патологии органов и систем, что служило поводом для назначения дополнительных консультаций специалистов соответствующего профиля, провести анализ клинических аспектов жалоб у пациентов с возникшими симптомами непереносимости.

Выявление антител, связанных с клетками в предложенных тестах (РВМ и РАПЛ), дает более точную диагностику в период контакта с аллергеном и позволяет повысить точность диагностики аллергии к пищевым добавкам, учитывая их разнообразный механизм действия и широкое присутствие в потребительских товарах [2, 6, 7]. Поэтому для определения гиперчувствительности к TiO_2 и $Ti-Ni$ нами использована реакция аллергениндуцированного повреждения лейкоцитов (РАПЛ) [11].

Определение сенсibilизации лейкоцитов с использованием РАПЛ.

В качестве аллергена использовалась суспензия диоксида титана – 1 мг порошка TiO_2 на 1 мл физраствора.

Образцы Ti-Ni с дентальным сплавом в качестве аллергена получали путем измельчения вулканитовым диском до мелкой стружки дентальных сплавов. Полученные образцы автоклавировали, а затем в количестве 125 мг помещали в стерильные полипропиленовые пробирки и заливали 1 мл стерильного физиологического раствора. Взвесь периодически перемешивали на шейкере в течение 48 часов при комнатной температуре и центрифугировали при 3000 об/мин в течение 20 минут. Затем добавляли по 25 мкл суспензиев к лейкоцитам пациентов.

Предлагаемые аллергены для РАПЛ с лейкоцитами 20 здоровых лиц без аллергии не вызывали неспецифического повреждения лейкоцитов в реакции аллергениндуцированного повреждения лейкоцитов.

Поэтому как аллергены использовали суспензии TiO_2 и Ti-Ni в физиологическом растворе хлорида натрия, полученные по вышеуказанным алгоритмам.

Для проведения исследования брали 10 мл крови из вены в пробирку с 20 ед/мл гепарина. Плазму крови отстаивали 30-40 мин и использовали суспензию неразделенных лейкоцитов. Готовили суспензию лейкоцитов в концентрации 2×10^6 в 1 мл путем их отмывания от плазмы крови раствором хлорида натрия.

Аллергены-растворы солей металлов смешивали с 0,25-0,05 мл суспензии лейкоцитов, а к одной пробе, являющейся контрольной, аллерген не добавляли. Инкубировали смеси лейкоцитов с аллергенами-растворами солей металлов при $37^\circ C$ в течение 30 мин. Пробы дублировали. После инкубации смесь центрифугировали при 1000 об/мин 5 мин, после чего надосадочную жидкость сливали и добавляли 2 капли трипанового синего (0,1% раствор), ресуспендировали и в камере Горяева подсчитывали процент окрашенных лейкоцитов.

Цитотоксический индекс (ЦИ) рассчитывали по формуле 1:

$$(a-b) : a \times 100\% \quad (1)$$

где:

a – процент окрашенных клеток в опыте после инкубации с аллергеном;

b – то же, но в опыте без аллергена [11].

Интерпретация результатов осуществлялась следующим образом: если цитотоксический индекс был больше 15% (соотношение поврежденных клеток в опыте по сравнению с контролем), то это указывало на наличие сенсибилизации лейкоцитов к раствору-аллергену.

Для статистической обработки результатов исследования использована прикладная программа Statistica 10.0.

Результаты

В ходе работы с пациентами, направленными в клинику кафедр общей стоматологии с курсом ортопедической стоматологии и клинической иммунологии и аллергологии с курсом ФПК и ПК УО «ВГМУ» за период с 2009 по 2016 гг. с жалобами на НЗМ, нами отмечено, что в определенном числе случаев гиперчувствительность у пациентов к «нестоматологическим» аллергенам проявлялась на СОПР и интерпретировалась врачами-стоматологами как аллергия на дентальные сплавы в силу распространенного мнения о «высокой аллергенности» штампованно-паянных конструкций из нержавеющей стали с нитрид-титановым напылением. Нами замечено, что причиной подобных симптомов служил краситель белого цвета – диоксид титана.

Результаты выявления гиперчувствительности лейкоцитов к TiO_2 и Ti-Ni (1:1000) in vitro.

Положительные результаты РАПЛ к TiO_2 в опытной группе встречались у 16 (34%) пациентов, а к суспензии сплава с Ti-Ni – у 18 (38,3%) пациентов (табл. 1). В контрольной группе положительные результаты РАПЛ к TiO_2 встречались у 3 (10%) пациентов, а к суспензии сплава с Ti-Ni – у 6 (20%) пациентов.

Анализ полученных данных позволил выявить прямую сильную корреляцию между результатами выявления гиперчувствительности, определяемой в РАПЛ к TiO_2 и Ti-Ni ($R=0,76$; $p \leq 0,05$) (рис. 1).

Клинический пример сочетанной гиперчувствительности к TiO_2 и Ti-Ni. Пациентка Н, 59 лет, обратилась с направлением из УЗ «Витебская областная стоматологическая поликлиника» на кафедру клинической иммунологии и аллергологии с курсом ФПК и ПК УО «ВГМУ» с жалобами на появление гиперемии СОПР и жжения в области штампованно-паянного мостовидного протеза из неблагородного сплава с Ti-Ni напылением. Протезы изготовлены 1 год назад. Из анамнеза установлено, что вышеупомянутые симптомы появились около 2 недель назад и постепенно нарастают.

Объективно: в области мостовидных протезов, с опорой на зубы 3.4, 3.5, 3.7 и 4.4, 4.6,

Таблица 1 – Результаты обследования пациентов на наличие гиперчувствительности к TiO_2 и Ti-Ni , определяемой в РАПЛ

Метод диагностики <i>in vitro</i>	Опытная группа (n=47)		Контрольная группа (n=30)	
	Положительные реакции, n (%)	Отрицательные реакции, n (%)	Положительные реакции, n (%)	Отрицательные реакции, n (%)
TiO_2	16 (34 %)	31 (56%)	3 (10 %)	27 (90%)
Ti-Ni	18 (38,3%)	29 (61,7%)	6 (20%)	24 (80%)

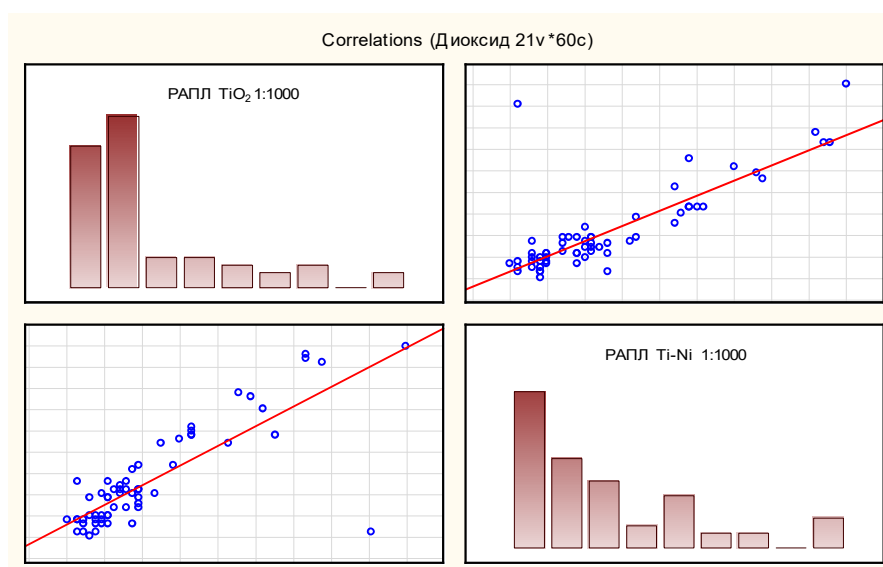


Рисунок 1 – График рассеяния объектов при анализе корреляций (Spearman) между результатами выявления гиперчувствительности РАПЛ к TiO_2 и Ti-Ni .

СОПР щек отечна, гиперемирована. Маргинальная адаптация коронок удовлетворительная. Коррекция гигиены и назначение дополнительных полосканий полости рта 0,1% раствором хлоргексидина в течение одной недели к исчезновению симптомов воспаления десны не привели.

Установлено, что пациентка весной и осенью проводит противорецидивное лечение язвенной болезни желудка, принимая омез в течение 2-недель (каждая капсула содержит 3,150 мг титана диоксида). В день обращения пациентка 14-й день принимала омез и отмечала усиление жжения в полости рта.

Установлено, что соседкой по квартире пациентке рекомендовано использовать зубную пасту «Sensodyne» (по мнению соседки, данная паста «должна убирать жжение»), содержащую в своем составе TiO_2 . После чистки данной зубной пастой у пациентки значительно усиливалось жжение СОПР. Несмотря на это пациентка устанавливала причинно-следственную связь в

возникновении симптомов с имеющимися у нее ортопедическими конструкциями.

По результатам постановки РАПЛ с TiO_2 и Ti-Ni (1:1000) установлено наличие гиперчувствительности лейкоцитов к обоим компонентам.

Кроме того, при проведении трансбуккального теста с раствором (1:10) зубной пасты «Sensodyne», принесенной пациенткой, было установлено наличие прироста калия и миелопероксидазы более чем на 30% по сравнению с исходным уровнем.

На основании лабораторного обследования и сбора анамнеза мы предположили, что усиление жжения может быть вызвано TiO_2 . Пациентке было рекомендовано заменить зубную пасту на любую профилактическую, не содержащую TiO_2 .

Пациентка выбрала зубную пасту Parodontax, после чистки которой перестала испытывать усиление жжения. Кроме того, завершение курса приема омеза привело к постепенному исчезновению симптомов жжения. Тем не менее пациентке было рекомендовано заменить

имеющиеся ортопедические конструкции на конструкции без Ti-Ni напыления.

Обсуждение

Вопрос о лечении НЗМ является нерешенным из-за отсутствия эффективных консервативных методов профилактики и лечения данной патологии антиаллергическими, противовоспалительными, антигистаминными и другими препаратами.

По нашему мнению, консервативных методов лечения аллергии на дентальные сплавы нет и быть не может, так как первым пунктом в лечении любого аллергического заболевания является устранение аллергена.

Кроме того, симптомы в полости рта пациента, характерные для НЗМ, могут возникать из-за других причин, например аллергии на другие антигены, вызывающие симптомы, схожие с аллергией на стоматологические материалы, что ведет к неправильному пониманию причин их возникновения. Недопонимание этиопатогенеза патологических симптомов ведет к выбору несоответствующего плана лечения, а именно к снятию зубных протезов с заменой на другие, зачастую более дорогостоящие, что не приводит к исчезновению жжения СОПР. Подобная ситуация является конфликтной, так как пациент несет финансовые потери и испытывает моральные трудности в ходе повторного протезирования. Для врача такая ситуация становится крайне затруднительной, так как нет четкого алгоритма действий в подобной ситуации и мера ответственности врача не определена законодательством РБ.

Результаты проведенной работы указывают на необходимость изучения вопроса аллергических реакций, проявляющихся на СОПР, но индуцированы веществами, не являющимися компонентами стоматологических материалов, однако схожими по химическому составу.

Диоксид титана является неотъемлемым компонентом многих веществ, постоянно контактирующих с СОПР. Особое значение это приобретает при обследовании лиц с хроническими заболеваниями, которые на протяжении длительного времени постоянно и регулярно принимают энтерально диоксид титана в составе капсул. Поэтому мы считаем необходимым выявление сенсибилизации к диоксиду титана у пациентов с жалобами на непереносимость дентальных сплавов, напыленных нитридом титана.

Заключение

1. У пациентов с непереносимостью дентальных сплавов, напыленных нитридом титана ($n=47$) сенсибилизация к диоксиду титана выявлена по результатам диагностики, проведенной с использованием реакции аллергениндуцированного повреждения лейкоцитов, у 16 (34%) пациентов, что достоверно отличалось ($p \leq 0,05$) от 3 (10%) положительных результатов РАПЛ у пациентов контрольной группы ($n=30$).

2. Наличие прямой сильной корреляции ($R=0,76$; $p \leq 0,05$) между результатами выявления гиперчувствительности к TiO_2 и Ti-Ni, определяемой в реакции аллергениндуцированного повреждения лейкоцитов, указывает на сочетанное воздействие различных веществ на СОПР, с общим индуктором гиперчувствительности – Ti^{2+} .

3. Показано, что диоксид титана способен индуцировать возникновение симптомов НЗМ в полости рта ввиду широкого повсеместного употребления в косметическом производстве, пищевой и фармацевтической промышленности и постоянного воздействия этих веществ на СОПР.

4. Проблема непереносимости дентальных сплавов, напыленных Ti-Ni, является комплексной. При обращении пациентов с жалобами на непереносимость необходимо наблюдать пациента на предмет гиперчувствительности к диоксиду титана.

Литература

1. Величко, Л. С. Дифференциальная диагностика, профилактика и лечение гиперестезий полости рта / Л. С. Величко, Н. В. Ящиковский // Современ. стоматология. – 2012. – № 1. – С. 34–36.
2. Лебедев, К. А. Непереносимость зубопротезных материалов / К. А. Лебедев, А. В. Митронин, И. Д. Понякина. – М. : Либроком, 2010. – 208 с.
3. Аляхнович, Н. С. Распространенность, применение и патологические эффекты диоксида титана / Н. С. Аляхнович, Д. К. Новиков // Вестн. ВГМУ. – 2016. – Т. 15, № 2. – С. 7–16.
4. Occurrence and removal of titanium at full scale wastewater treatment plants: implications for TiO_2 nanomaterials / P. Westerhoff [et al.] // J. Environ. Monit. – 2011 May. – Vol. 13, N 5. – P. 1195–1203.
5. Titanium dioxide nanoparticles in food and personal care products / A. Weir [et al.] // Environ. Sci. Technol. – 2012. – Vol. 46, N 4. – P. 2242–2250.
6. Аляхнович, Н. С. Пищевой краситель и фармацевтик диоксид титана как патоген / Н. С. Аляхнович, Д. К. Новиков // Иммунопатология. Аллергология. Инфектология. – 2015. – № 1. – С. 71–77.
7. Титова, Н. Д. Аллергические и неаллергические реак-

ции на добавки в пищу и лекарствах / Н. Д. Титова // Аллергология и иммунология. – 2010. – Т. 11, № 3. – С. 250–258.

8. Титова, Н. Д. Аллергия, атопия, IgE-антитела и концепция аллергенной сети / Н. Д. Титова // Иммуноаллергология. – 2011. – № 4. – С. 39–47.
9. Храмченко, С. Н. Композиционные материалы в терапевтической стоматологии : учеб.-метод. пособие / С.

Н. Храмченко, Л. А. Казеко. – Минск, 2007. – 20 с.

10. Titanium dioxide nanoparticles: a review of current toxicological data / H. Shi [et al.] // Part. Fibre. Toxicol. – 2013 Apr. – Vol. 10. – P. 15.
11. Новиков, Д. К. Лекарственная аллергия / Д. К. Новиков, Ю. В. Сергеев, П. Д. Новиков. – М. : Нац. акад. микологии, 2001. – 330 с.

Поступила 26.12.2016 г.

Принята в печать 04.04.2017 г.

References

1. Velichko LS, Yashchikovskiy NV. Differential diagnostics, prophylaxis and treatment of hyperesthesias of an oral cavity. *Sovremen Stomatologiya*. 2012;(1):34-6. (In Russ.)
2. Lebedev KA, Mitronin AV, Ponyakina ID. Intolerance of dentoprosthetic materials. Moscow, RF: Librokom; 2010. 208 p. (In Russ.)
3. Alyakhnovich NS, Novikov DK. Prevalence, use and pathological effects of titanium dioxide. *Vestn VGMU*. 2016;15(2):7-16. (In Russ.)
4. Westerhoff P, Song G, Hristovski K, Kiser MA. Occurrence and removal of titanium at full scale wastewater treatment plants: implications for TiO₂ nanomaterials. *J Environ Monit*. 2011 May;13(5):1195-203. doi: 10.1039/c1em10017c.
5. Weir A, Westerhoff P, Fabriciu L, Hristovski K, von Goetz N. Titanium dioxide nanoparticles in food and personal care products. *Environ Sci Technol*. 2012;46(4):2242-50. doi: 10.1021/es204168d
6. Alyakhnovich NS, Novikov DK. Food dye and фармацевтический titanium dioxide as pathogen. *Immunopatologiya Allergologiya Infektologiya*. 2015;(1):71-7. (In Russ.)
7. Titova ND. Allergic and non-allergic reactions to additives in food and medicines. *Allergologiya Immunologiya*. 2010;11(3):250-8. (In Russ.)
8. Titova ND. Allergy, atopy, IgE antibodies and the allergen concept network. *Immunopatologiya Allergologiya Infektologiya*. 2011;(4):39-47. (In Russ.)
9. Khranchenko SN, Kazeko LA. Composite materials in a therapeutic odontology: учеб.-метод. пособие. Minsk, RB; 2007. 20 p. (In Russ.)
10. Shi H, Magaye R, Castranova V, Zhao J. Titanium dioxide nanoparticles: a review of current toxicological data. *Part Fibre Toxicol*. 2013 Apr;10:15. doi: 10.1186/1743-8977-10-15.
11. Novikov DK, Sergeev YuV, Novikov PD. *Drug Allergy*. Moscow, RF: Nats akad mikologii; 2001. 330 p. (In Russ.)

Submitted 26.12.2016

Accepted 04.04.2017

Сведения об авторах:

Карпук И.Ю. – к.м.н., доцент, докторант кафедры клинической иммунологии и аллергологии с курсом ФПК и ПК, Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет.

Information about authors:

Karpuk I.Y. – Candidate of Medical Sciences, associate professor, doctoral candidate of the Chair of Clinical Immunology & Allergology with the course of the Faculty for Advanced Training & Retraining, Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University.

Адрес для корреспонденции: Республика Беларусь, 210029, ул. Правды, д. 66, кв. 112. E-mail: ikarpuk@mail.ru – Карпук Иван Юрьевич.

Correspondence address: Republic of Belarus, 210029, Vitebsk, 66 Pravdy str., 112. E-mail: ikarpuk@mail.ru – Ivan Y. Karpuk.

ИЗОЛИРУЮЩИЕ СВОЙСТВА УСТЬЕВОЙ ПЛОМБЫ ПРИ ВНУТРИКОРОНКОВОМ ОТБЕЛИВАНИИ ЗУБОВ

НОВАК Н.В.¹, БАЙТУС Н.А.²

¹Белорусская медицинская академия последипломного образования, г. Минск, Республика Беларусь

²Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет, г. Витебск, Республика Беларусь

Вестник ВГМУ. – 2017. – Том 16, №2. – С. 113-119.

INSULATING PROPERTIES OF ENTRANCE SEALS ON INTRACROWN TEETH WHITENING

NOVAK N.V.¹, BAITUS N.A.²

¹Belarusian Medical Academy of Post-Graduate Education, Minsk, Republic of Belarus

²Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University, Vitebsk, Republic of Belarus

Vestnik VGMU. 2017;16(2):113-119.

Резюме.

Изменение и коррекция цвета зубов является актуальной проблемой современной стоматологии. Для депульпированных зубов наиболее целесообразно применять внутрикоронковое отбеливание с использованием перекиси водорода, пероксида карбамида и пербората натрия. Однако на сегодняшний день в литературе нет данных о материале, полностью изолирующем корень зуба при отбеливании. Поэтому актуальным является изучение эффективности использования различных пломбировочных материалов для изготовления устьевой изолирующей прокладки.

Целью исследования было оценить микропроницаемость материалов, используемых для изготовления устьевой пломбы при внутрикоронковом отбеливании.

Материал и методы. Объектом исследования служили 122 шлифа 65 зубов. Для изучения в качестве устьевых пломб были выбраны: «Ketac Fill Plus» (3M ESPE, США); «Уницем» (ВладМиВа, РФ); «RelayX U200» (3M ESPE, США); «Fudji II LC» (GC, Япония). Обтурацию корневых каналов проводили методом латеральной конденсации с использованием силера на основе эпоксидной смолы «Виздент» и силера на основе эвгенола «Эодент» (ВладМиВа, РФ).

Результаты. Наименьшие значения проникновения красителя в твердые ткани зуба по границе «устьевая пломба/корневой канал» наблюдались при использовании самоадгезивного цемента «RelayX U200» и составили 0,31±0,12 балла (p=0,036). При использовании стеклоиономерных цемента «Fudji II LC» и «Ketac Fill Plus» степень проникновения красителя составила 0,81±0,25 и 1,0±0,29 балла соответственно. Цинкфосфатный цемент «Уницем» продемонстрировал низкую герметизирующую способность 1,93±0,36 балла (p=0,036).

Закключение. Результаты проведенного исследования свидетельствуют, что лучшую изолирующую способность в качестве устьевой пломбы показал самоадгезивный самопротравливающий цемент, поэтому он может быть рекомендован для обтурации устья при внутрикоронковом отбеливании. Цинкфосфатный цемент химического отверждения продемонстрировал низкую герметизирующую способность, и его использование в качестве устьевой пломбы нежелательно при проведении внутреннего отбеливания.

Ключевые слова: микропроницаемость, устьевая пломба, внутрикоронковое отбеливание.

Abstract.

Change and correction of teeth color is an urgent problem of modern dentistry. For pulpless teeth it is most advisable to use intracrown whitening by means of hydrogen peroxide, carbamide peroxide and sodium perborate. However, for today there are no published data about the material, that completely isolates the root of the tooth on whitening. So it is urgent to study the effectiveness of the use of different filling materials for the production of entrance insulating inlays.

Objectives. To evaluate micropermeability of the materials used for the manufacturing of entrance seals on intracrown whitening.

Material and methods. 122 specimens of 65 teeth served as an object of the research. To study as entrance seals «Ketac Fill Plus» (3M ESPE, USA); «Unitsem» (VladMiVa, Russia); «RelayX U200» (3M ESPE, USA); «Fudji II LC» (GC, Japan) were selected. The obturation of root canals was done by the lateral condensation method using the sealer «Viedent» based on epoxide resin and the sealer «Eodent» based on eugenol (VladMiVa, Russia).

Results. The lowest values of the dye penetration in the hard tissues of the tooth at the border «entrance filling/root canal» were observed when using self-adhesive luting cement «RelayX U200» and they amounted to $0,31 \pm 0,12$ points ($p=0,036$). While using glass ionomer cements «Fudji II LC» and «Ketac Fill Plus» the degree of dye penetration made up $0,81 \pm 0,25$ and $1,0 \pm 0,29$ points, respectively. Zinc phosphate cement «Unitsem» demonstrated low hermetic capacity – $1,93 \pm 0,36$ points ($p=0,036$).

Conclusions. The results of the conducted study suggest that the best insulating capacity as an entrance seal was shown by self-adhesive self-etching cement, so it can be recommended for the entrance obturation on intracrown whitening. Zinc phosphate cement of chemical curing demonstrated poor sealing capacity and its use as an entrance seal is undesirable during the internal bleaching.

Key words: micropermeability, entrance seal, intracrown whitening.

Коррекция измененных в цвете депульпированных зубов является проблемой современной стоматологии. В зависимости от причин, вызвавших дисколорит, для его устранения используются многочисленные методы начиная с простейших мероприятий, таких как гигиенический уход за зубами, до комбинированных методик с использованием интенсивного отбеливания. Качество отбеливания, в свою очередь, зависит от причин, вызвавших изменение цвета, от интенсивности цветового окрашивания, длительности проникновения пигментированных агентов в твердые ткани зуба [1-3].

На сегодняшний день в стоматологической практике существуют различные технологии и материалы для отбеливания зубов. Для депульпированных зубов наиболее целесообразно применять внутрикоронковое отбеливание с использованием перекиси водорода, пероксида карбамида и пербората натрия. В основе отбеливающего эффекта лежат окислительные процессы в органических субстанциях эмали и дентина. Активные ингредиенты геля обеспечивают осветляющий эффект. Эмаль и дентин являются проницаемыми структурами для растворов низкомолекулярных веществ. Поэтому молекулы перекиси водорода свободно проникают через эмаль и дентин, выступая в качестве окислителя и оксигенатора, и расщепляются на кислород и свободные радикалы HO_2 . Именно свободным радикалам присуще свойство сильного окислителя [4].

По мнению некоторых исследователей, профессиональное отбеливание может негативно воздействовать на структуру твердых тканей зубов [5-10]. Из-за высокощелочной реакции отбеливающих агентов происходит наружная ре-

зорбция твердых тканей зуба, степень которой зависит от уровня минерализации зуба, возраста, наличия дефектов и сколов твердых тканей зуба в месте внесения отбеливающего агента, а также от наличия изолирующей прокладки между устьем корневых каналов и отбеливающим препаратом. Правильно выбранный материал для изготовления изолирующей устьевой прокладки может предотвратить проникновение отбеливающего агента в корневой канал и ткани периодонта [11, 12].

При всем арсенале средств современной терапевтической стоматологии проблема герметичности устьевых пломб в ряде случаев остается нерешенной. Пломбировочные материалы не должны оказывать токсического воздействия на ткани зуба и весь организм в целом и должны предотвращать распространение отбеливающего препарата по дентину зуба в область шейки и по корневому каналу в периодонт. Некачественная устьевая пломба приводит к проникновению отбеливающего средства в корень и, как следствие резорбции корня и отлому коронки зуба. На сегодняшний день в литературе имеются разноречивые данные о применении материалов, изолирующих корень зуба при отбеливании. Ряд авторов рекомендуют использовать в качестве защитного барьера поликарбоксилатный или цинк-фосфатный цемент [1, 2]. В инструкциях фирм-производителей указываются стеклоиономерные цементы. Поэтому актуальным является изучение эффективности использования различных пломбировочных материалов, применяемых для изготовления устьевой изолирующей прокладки.

Цель исследования – оценить микропроницаемость пломбировочных материалов, исполь-

зуемых для изготовления устьевой пломбы при внутрикоронковом отбеливании.

Материал и методы

Объектом исследования при определении микропроницаемости устьевой пломбы служили шлифы 65 зубов, приготовленных из экстрагированных зубов (44 однокорневых зуба и 21 двухкорневой зуб), удаленных по показаниям на хирургическом стоматологическом приеме. Для проведения экспериментального исследования биопрепараты удаленных зубов готовили согласно установленным нормам работы с биологическим материалом и хранились в физрастворе.

Для лабораторного исследования зубы произвольно разделяли на 2 основных группы в зависимости от используемого корневого силера. В первой группе obturацию корневого канала проводили методом латеральной конденсации с силером на основе эвгенола «Эодент» (ВладМиВа, РФ), во второй группе – на основе эпоксидной смолы «Виздент» (ВладМиВа, РФ).

Далее каждую группу делили на 4 подгруппы исходя из материалов, выбранных для изготовления устьевых пломб: I-ая – стеклоиономерный цемент химического отверждения «Ketas Fill Plus» (3M ESPE, США); II-ая – цинкфосфатный цемент химического отверждения «Уницем» (ВладМиВа, РФ); III-ая – самоадгезивный самопротравливающий композитный цемент двойного отверждения «RelayX U200» (3M ESPE, США); IV-ая – стеклоиономерный цемент двойного отверждения «Fudji II LC» (GC, Япония). В каждой подгруппе в выборке насчитывалось по 8-9 зубов.

На первом этапе исследования готовили образцы удаленных зубов, корневые каналы которых механически обрабатывали конусными эндодонтическими инструментами. Антисептическую обработку проводили 3% раствором гипохлорита натрия. На втором этапе исследования очищенные и сформированные каналы высушивали бумажными штифтами и obturировали методом латеральной конденсации с применением силера на основе эвгенола «Эодент» и силера на основе эпоксидной смолы «Виздент» с последующим наложением герметичной повязки «Дентин-паста». Подготовленные образцы помещали в камеру термостата (ТС-8М-2) и выдерживали 48 часов при температуре 37° и влажности 95% с целью окончательного отверждения силера в

корневых каналах. Далее временную пломбу извлекали, удаляли излишки гуттаперчи и силера, проводили медикаментозную обработку подготовленной полости зуба 0,05% раствором хлоргексидина. Доступ в канал закрывали одним из четырех исследуемых материалов, предназначенных для изготовления устьевой пломбы. Цементы замешивали согласно инструкции фирмы-производителя. Материал вносили в полость зуба с помощью стоматологического зонда. После отверждения материала в полость зуба помещали ватный тампон, смоченный красителем – 2% раствором метиленового синего, имитирующим отбеливающее вещество, на сутки. В качестве временной пломбы, удерживающей отбеливающее средство в полости зуба, использовали материалы 2-х видов: 1) на основе эвгенола и окиси цинка «Дентин-паста» (ВладМиВа, РФ), 2) стеклоиономерный цемент «Цемион» (ВладМиВа, РФ) для равного количества исследуемых зубов с последующей оценкой герметизирующей способностью указанных материалов.

Затем образцы помещали в камеру термостата (ТС-8М-2) на 24 часа при температуре 37° и влажности 95% с целью имитации условий в полости рта. Через сутки временную пломбу удаляли и извлекали ватный тампон с остатками красителя. Далее корни зубов сепарировали в щечно-язычном направлении с применением сепарационного диска с алмазным напылением и высокоскоростного наконечника на всю длину зуба. Полученные срезы с целью устранения дефектов и грубых шероховатостей полировали с помощью полировочных дисков. Изготовленные шлифы для очистки от механической пыли и обезжиривания обрабатывали этиловым спиртом 70%. Изучали в среднем по 2 шлифа на зуб. Изображения образцов срезов сохраняли на сканере Canon «CanoScan LiDE 110» с последующей оценкой в бальной шкале (рис. 1, 2).

В эксперименте *in vitro* изучали краевую проницаемость устьевой пломбы и ее герметичность. Проникновение красителя в устьевую пломбу и корневые каналы оценивали в баллах от 0 до 4 исходя из следующих критериев:

- нет окрашивания по границе пломбировочного материала и корневого канала – 0 баллов;
- проникновение красителя в дентин и/или корневой канал не более 1/5 толщины стенки корня – 1 балл;
- проникновение красителя в дентин и/или корневой канал не более чем на 1/4 толщины

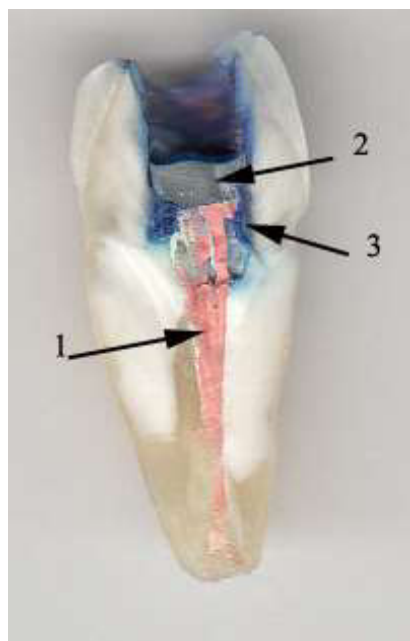


Рисунок 1 – Шлиф зуба после изготовления устьевой пломбы и внесения красителя (в качестве временной пломбы использован «Цемион»):

1 – корневой канал; 2 – изолирующая устьевая прокладка; 3 – краситель в твердых тканях зуба.

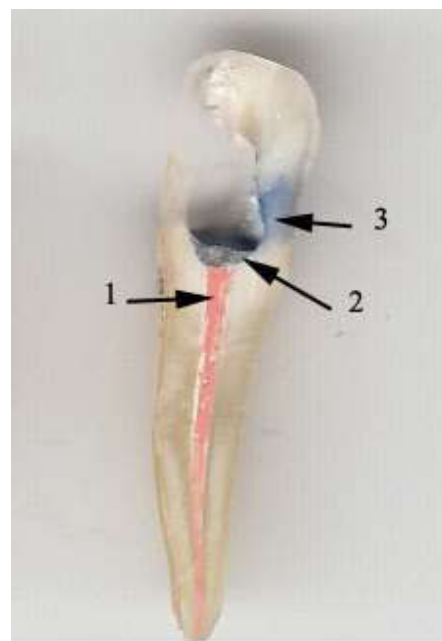


Рисунок 2 – Шлиф зуба после изготовления устьевой пломбы и внесения красителя (в качестве временной пломбы использована «Дентин-паста»):

1 – корневой канал; 2 – изолирующая устьевая прокладка; 3 – краситель в твердых тканях зуба.

стенки корня – 2 балла;

– проникновение красителя в дентин и/или корневой канал не более чем на 1/3 толщины стенки корня – 3 балла;

– проникновение красителя в дентин и/или корневой канал более чем на 1/2 толщины стенки корня – 4 балла.

Всего было изучено 122 среза 65 зубов. Статистическую обработку проводили с помощью пакета прикладных программ Statistica 8.0. Независимые группы сравнивали с помощью теста Kruskal - Wallis и Dunn's теста.

Результаты и обсуждение

Оценка степени проникновения красителя через устьевую пломбу, где в качестве силера для obturирования корневых каналов использовался материал на основе эвгенола «Эодент» с оценкой в балльной шкале представлена в таблице 1. Объем выборки, для которой вычислены приведенные в таблице показатели, равен $n=60$.

Анализ полученных данных показал следующее. Минимальные значения просачивания красителя в твердые ткани зуба по границе устьевая пломба/корневой канал наблюдали при

Таблица 1 – Данные микропроницаемости устьевых пломб, выполненных из разных материалов, при obturации корневых каналов методом латеральной конденсации с силером «Эодент»

Используй- ванные материалы	Степень проникновения красителя в срезы зубов в баллах																	Среднее значение M±m	
«Ketac Fill Plus»	2	1	1	1	-	2	-	3	-	4	0	0	0	0	0	0	-	-	1,07±0,24
«Fudji ll LC»	0	0	2	1	3	1	2	0	1	0	0	1	0	1	0	0	-	-	0,75±0,17
«RelayX U200»	0	0	0	-	1	1	0	-	0	1	2	1	1	2	0	0	0	0	0,56±0,12
«Уницем»	4	3	3	3	-	2	1	1	3	4	1	2	0	1	0	0	-	-	2,07±0,32

использовании композитного цемента двойного отверждения «RelayX U200» и стеклоиономерного цемента двойного отверждения «Fudji II LC», и составили $0,56 \pm 0,12$ и $0,75 \pm 0,17$ балла соответственно, что интерпретировали как незначительное проникновение красителя в дентин и/или корневой канал корня. Следует отметить, что наличие трещин в области шейки зуба и коронковой части корневого канала были основной причиной проникновения красителя в твердые ткани зуба. При использовании стеклоиономерного цемента «Ketac Fill Plus» степень проникновения красителя составила $1,07 \pm 0,24$ балла, что соответствовало проникновению красителя в дентин или корневой канал не более 1/5 толщины стенки корня. Цинкфосфатный цемент «Уницем» показал наименьшую герметизирующую способность, степень проникновения красителя составила $2,07 \pm 0,32$ балла, что характеризовалось как проникновение красителя в дентин и/или корневой канал до 1/4 толщины стенки корня.

Для определения различий в исследуемых группах использовался тест Kruskal - Wallis и Dunn's тест. При проведении попарных сравнений каждой группы достоверные различия выявлены между цинкфосфатным цементом «Уницем» и композитным цементом двойного отверждения «RelayX U200» ($p=0,036$).

Оценка степени проникновения красителя в срезы зубов, где в качестве силера для obturирования корневых каналов использовался «Виздент» с оценкой в балльной шкале представлена в таблице 2. Объем выборки, для которой вычислены приведенные в таблице показатели, равен $n=62$.

Результаты исследования показали, что наименьшие значения проникновения красителя в твердые ткани зуба по границе устьевая плом-

ба/корневой канал наблюдали при использовании композитного цемента двойного отверждения «RelayX U200» и составили $0,31 \pm 0,12$ балла, что интерпретировали как незначительное проникновение красителя в дентин коронки и корня зуба. При использовании стеклоиономерных цемента «Fudji II LC» и «Ketac Fill Plus» степень проникновения красителя составила $0,81 \pm 0,25$ и $1,0 \pm 0,29$ балла соответственно, что означало проникновение красителя в дентин и/или корневой канал не более 1/5 толщины стенки корня. Цинкфосфатный цемент «Уницем» показал наименьшую герметизирующую способность, степень проникновения красителя составила $1,93 \pm 0,36$ балла, что соответствовало проникновению красителя в дентин и/или корневой канал до 1/4 толщины стенки корня.

Для определения различий в группах использовался тест Kruskal - Wallis и Dunn's тест. При проведении попарных сравнений каждой группы статистически значимые различия выявлены между цинкфосфатным цементом «Уницем» и композитным цементом двойного отверждения «RelayX U200» ($p=0,036$).

При визуальной оценке герметизирующей способности временной пломбы, удерживающей отбеливающий гель в полости коронки зуба во всех исследуемых группах было обнаружено, что «Дентин-паста» была негерметичной, ее использование приводило к просачиванию красителя на режущий край и жевательную поверхность зубов. Степень проникновения красителя для данного материала составила $4 \pm 0,21$ балла (проникновение красителя в дентин более чем на 1/2 толщины стенки зуба). Поэтому применение «Дентин-пасты» либо другого материала этой группы в качестве временной пломбы недопустимо из-за риска проникновения высококонцентрированного от-

Таблица 2 – Данные микропроницаемости устьевых пломб, выполненных из разных материалов, при obturации корневых каналов методом латеральной конденсации с силером «Виздент»

Использованные материалы	Степень проникновения красителя в срезы зубов в баллах																	Среднее значение $M \pm m$
«Ketac Fill Plus»	3	2	3	0	1	1	1	1	1	3	0	0	0	0	0	0	0	$1,0 \pm 0,29$
«Fudji II LC»	0	1	0	0	0	0	2	2	3	3	0	1	0	0	0	1	1	$0,81 \pm 0,25$
«RelayX U200»	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0	1	0	1	1	$0,31 \pm 0,12$
«Уницем»	3	1	4	4	0	1	1	1	-	-	4	4	1	1	1	1	1	$1,93 \pm 0,36$

беливающего геля в полость рта и возникновения ожога слизистой оболочки. Для стеклоиономерного цемента «Цемион» эти показатели составили $1,29 \pm 0,32$ балла (проникновение красителя в дентин более чем на $1/5$ толщины стенки зуба). При соблюдении толщины слоя материала (не менее 2 мм) и правил работы стеклоиономерный цемент сохранял герметичность на всех этапах исследования и может быть рекомендован для использования в качестве коронковой временной пломбы для удержания отбеливающего геля в полости зуба при внутрикоронковом отбеливании.

Анализ использования для obturation корневых каналов силеров «Эодент» и «Виздент» показал, что герметизирующая способность материалов «Ketac Fill Plus», «RelayX U200» и «Уни-цем» была выше при использовании силера «Виздент». Obturation способность материала «Fudji II LC» была выше при использовании силера «Эодент».

Заключение

Результаты проведенного исследования свидетельствуют, что лучшую изолирующую способность в качестве устьевого пломбы показал самоадгезивный самопротравливающий цемент, поэтому он может быть рекомендован для obturation устья при внутрикоронковом отбеливании. Цинкфосфатный цемент химического отверждения продемонстрировал низкую герметизирующую способность, и его использование в качестве устьевого пломбы нежелательно при проведении внутреннего отбеливания. Различия герметизирующей способности исследуемых цементов в зависимости от используемых корневых силеров незначительны, однако лучшие характеристики были при obturation корневых каналов силером на основе эпоксидной смолы. Эвгенол-содержащий материал для изготовления временной пломбы «Дентин-паста» не рекомендуется к использованию, так как при ее применении выявлено проникновение высококонцентрированного отбеливающего геля в полость рта. В качестве временной пломбы при внутрикоронковом отбе-

линии целесообразно использовать стеклоиономерный цемент.

Литература

1. Луцкая, И. К. Коррекция цвета депульпированных зубов / И. К. Луцкая, Н. В. Новак // Современ. стоматология. – 2013. – № 1. – С. 32–36.
2. Луцкая, И. К. Методы клинического отбеливания зубов / И. К. Луцкая, Н. В. Новак // Современ. стоматология. – 2007. – № 2. – С. 4–9.
3. Луцкая, И. К. Домашнее отбеливание зубов / И. К. Луцкая, Н. В. Новак // Новое в стоматологии. – 2008. – № 3. – С. 10–14.
4. Луцкая, И. К. Коррекция цвета депульпированных зубов / И. К. Луцкая, Н. В. Новак // Дентал Юг. – 2013. – № 6. – С. 22–26.
5. Новак, Н. В. Экспериментальное исследование кариес-резистентности эмали зубов после отбеливания и реминерализации / Н. В. Новак, Н. А. Байтус // Вестн. ВГМУ. – 2016. – Т. 15, № 2. – С. 87–92.
6. Байтус, Н. А. Влияние отбеливания и последующей реминерализирующей терапии на кариесрезистентность эмали депульпированных зубов / Н. А. Байтус // Стоматолог. – 2016. – № 1. – С. 48–53.
7. Янушевич, О. О. Коррекция цвета зубов при дисколоритах / О. О. Янушевич, Н. И. Крихели // Рос. стоматология. – 2009. – Т. 2, № 2. – С. 12–18.
8. Ерофеева, Е. С. Повышение качества лечения пациентов с дисколоритами фронтальных зубов (экспериментально-клиническое исследование) : автореф. дис. ... канд. мед. наук : 14.01.14 / Е. С. Ерофеева ; Перм. гос. мед. акад. – Пермь, 2010. – 22 с.
9. Структурно-функциональный анализ твердых тканей зубов в оценке качества технологий отбеливания / Е. С. Ерофеева [и др.] // Рос. журн. биомеханики. – 2010. – № 2. – С. 47–55.
10. Кравцова, Ж. Е. Изменение структурных характеристик твердых тканей зубов при их отбеливании / Ж. Е. Кравцова, В. Н. Ходоренко, М. А. Звигинцев // Материалы с памятью формы и новые медицинские технологии. – Томск, 2010. – С. 191–193.
11. Чернявский, Ю. П. Микропроницаемость системы корневого канала зуба в зависимости от используемых антисептиков и силеров / Ю. П. Чернявский, Н. А. Байтус // Современ. стоматология. – 2010. – № 1. – С. 90–94.
12. Клинические аспекты лечения изменений цвета зубов после их депульпирования / В. Г. Атрушкевич [и др.] // Эндодонтия Today. – 2009. – № 3. – С. 36–38.

Поступила 24.02.2017 г.

Принята в печать 04.04.2017 г.

References

1. Lutskaia IK, Novak NV. Correction of color depulpirovannykh of teeth. Sovremen Stomatologiya. 2013;(1):32-6. (In Russ.)
2. Lutskaia IK, Novak NV. Methods of clinical whitening of teeth. Sovremen Stomatologiya. 2007;(2):4-9. (In Russ.)
3. Lutskaia IK, Novak NV. House whitening of teeth. Novoe Stomatologii. 2008;(3):10-4. (In Russ.)
4. Lutskaia IK, Novak NV. Correction of color

- depulpirovannykh of teeth. Dental Iug. 2013;(6):22-6. (In Russ.)
5. Novak NV, Baytus NA. Pilot study of a kariyesrezistentnost of an enamel of teeth after whitening and remineralization. Vestn VGMU. 2016;15(2):87-92. (In Russ.)
6. Baytus NA. Influence of whitening and the subsequent remineralizing therapy on an enamel kariyesrezistentnost the depulpirovannykh of teeth. Stomatolog. 2016;(1):48-53. (In Russ.)
7. Yanushevich OO, Krikheli NI. Correction of color of teeth at the diskoloritakh. Ros Stomatologiya. 2009;2(2):12-8. (In Russ.)
8. Erofeeva ES; Perm Gos Med Akad. Improvement of quality of treatment of patients from diskolorita of frontal teeth (experimental clinical trial): avtoref dis ... kand med nauk: 14.01.14. Permian, RF; 2010. 22 p. (In Russ.)
9. Erofeeva ES, Lyapunova EA, Oborin VA, Gileva OS, Naymark OB. The structurally functional analysis of firm tissues of teeth in an assessment of quality of technologies of whitening. Ros Zhurn Biomekhaniki. 2010;(2):47-55. (In Russ.)
10. Kravtsova ZhE, Khodorenko VN, Zvigintsev MA. Change of structural characteristics of firm tissues of teeth at their whitening. V: Materialy s pamiat'iu formy i novye meditsinskie tekhnologii. Tomsk, RF; 2010. P. 191-3. (In Russ.)
11. Chernyavskiy YuP, Baytus NA. Micropermeability of system of the root channel of tooth depending on the used antiseptics and siler. Sovremen Stomatologiya. 2010;(1):90-4. (In Russ.)
12. Atrushkevich VG, Vasyukova OM, Zyuzina TV, Dadaeva AR, Tsymbal TN. Clinical aspects of treatment of discolorations of teeth after their depulpirovaniye. Endodontiya Today. 2009;(3):36-8. (In Russ.)

Submitted 24.02.2017

Accepted 04.04.2017

Сведения об авторах:

Новак Н.В. – д.м.н., доцент кафедры терапевтической стоматологии, Белорусская медицинская академия последипломного образования;

Байтус Н.А. – ассистент кафедры терапевтической стоматологии, Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет.

Information about authors:

Novak N.V. – Doctor of Medical Sciences, associate professor of the Chair of Restorative Dentistry, Belarusian Medical Academy of Post-Graduate Education;

Baitus N.A. – teacher of the Chair of Restorative Dentistry, Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University.

Адрес для корреспонденции: Республика Беларусь, 210029, г. Витебск, ул. Правды, д.66, к.1, кв.143. E-mail: nina.belarus@mail.ru – Байтус Нина Александровна.

Correspondence address: Republic of Belarus, 210029, Vitebsk, 66-1 Pravdy str., 143. E-mail: nina.belarus@mail.ru – Nina A. Baitus.

СЕМИНАР-ПРАКТИКУМ «ПУЛЬСОВАЯ ДИАГНОСТИКА – ОСНОВЫ ПРОПЕДЕВТИКИ И ТРАДИЦИОННОЙ КИТАЙСКОЙ МЕДИЦИНЫ»

21 марта 2017 г. в рамках междисциплинарного направления работы факультета «Здоровьесбережение» для преподавателей и студентов ВГМУ, работников социальной сферы прошел семинар-практикум «Пульсовая диагностика – основы пропедевтики и традиционной китайской медицины». С приветственным словом выступила декан факультета доцент Оленская Т.Л.

Основы пропедевтики исследования пульса были освящены в выступлении профессора кафедры пропедевтики внутренних болезней, д.м.н. Немцова Л.М.

С базовыми положениями пульсовой диагностики в концепции традиционной китайской медицины присутствующих познакомил врач традиционной китайской медицины, советник научно-технического холдинга Fohow Тан Баофу. Затем состоялся мастер-класс, на котором было продемонстрировано обследование пациента.

С целью повышения приверженности населения к здоровому образу жизни во второй половине дня состоялся семинар-практикум «Основы культуры питания – традиционная белорусская кухня и традиционной китайской медицины».

С информационным сообщением «Основы белорусской кухни в концепции здорового питания» выступила доцент кафедры медицинской реабилитации, к.м.н. Николаева А.Г.

Культура питания с позиции традиционной китайской медицины была изложена врачом традиционной китайской медицины Тан Баофу. Затем состоялась дискуссия, в ходе которой присутствующие получили ответы на интересующие их вопросы.



ДЕЛЕГАЦИЯ УНИВЕРСИТЕТА ИМ. КОМЕНСКОГО ИЗ БРАТИСЛАВЫ, СЛОВАКИЯ, ПОСЕТИЛА ВГМУ



22.03.17 ВГМУ посетила делегация из Словацкой Республики в составе декана Университета имени Коменского, профессора Яна Данко (г. Братислава), директора подразделения молекулярной медицины Биомедицинского центра Мартин (Биомед), доцента Эрики Глашовой и директора подразделения онкологии Биомед Мартин, доцента Зоры Ласабовой.

В ходе своего визита в ВГМУ гостям была проведена экскурсия по нашему университету. Также они посетили практические занятия студентов на кафедрах анатомии человека, клинической микробиологии, топографической анатомии и оперативной хирургии, электронную библиотеку.

Во время встречи с руководством нашего университета обсуждались вопросы, касающиеся дальнейшего межвузовского сотрудничества, возможных двухсторонних проектов по линии академической мобильности студентов и преподавателей, затрагивалась тема совместных научных исследований.

УЧАСТИЕ ВГМУ В МЕЖДУНАРОДНОЙ ТУРИСТИЧЕСКОЙ ВЫСТАВКЕ ITB BERLIN 2017

С 08 по 12 марта 2017 г. Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет принял участие в международной туристической выставке ITB Berlin 2017 (сектор – медицинский туризм), проходившей в Федеративной Республике Германия на базе выставочного комплекса Messe Berlin.

ITB Berlin 2017 представляет собой зеркало международной индустрии туризма, является главным форумом отрасли, охватывающей весь мир. На выставке были представлены все направления и все звенья цепочки создания туристического продукта. Были задействованы участники с 5 континентов, 185 стран, представлены более 10000 экспонентов.

Впервые за 51-летнюю историю на ITB Berlin 2017 была организована секция медицинского туризма. Медицинский туризм – востребованное и интенсивно развивающееся направление, поэтому новая секция привлекла большое внимание со стороны организаторов мероприятия, руководителей иностранных туристических и медицинских компаний, посетителей и журналистов.

В ходе выставки велись переговоры с иностранными партнерами по привлечению пациентов в клиники Республики Беларусь. Изложены преимущества обследования и лечения в нашей стране и представлен весь перечень услуг, которые может оказать государственный оператор медицинского туризма «Клиники Беларуси» и клиника УО «ВГМУ». Иностранцам, заинтересованным в обучении на базе нашего университета, а также в академических обменах студентов и преподавателей, предоставлялась полная информация, касающаяся этого вопроса.

Участие УО «ВГМУ» в ITB Berlin 2017 вызвало большой интерес у посетителей выставки и журналистов. В ходе данного мероприятия неоднократно давались интервью для местных средств массовой информации с целью популяризации направления медицинского туризма и привлечения большего количества заинтересованных иностранных граждан в Республику Беларусь для последующего обследования и лечения. Участие УО «ВГМУ» в ITB Berlin 2017 может способствовать наращиванию экспорта медицинских услуг организациями здравоохранения системы Минздрава Республики Беларусь, а также популяризации возможностей нашего университета на международной арене.



СЕМИНАР ПО ОСНОВАМ ДЕНТАЛЬНОЙ ИМПЛАНТАЦИИ С МАСТЕР-КЛАССОМ НА МОДЕЛЯХ ЧЕЛЮСТЕЙ

1 марта 2017 года выпускники стоматологического факультета ВГМУ посчастливилось принять участие в мастер-классе, который провели представители компании дентальных имплантатов из г.Минска.

Студенты прослушали лекцию по основам дентальной имплантации, имели возможность задать интересующие вопросы, также в ходе лекции были продемонстрированы фото конкретных клинических случаев до и после операции дентальной имплантации, студентам были представлены видеоматериалы хода операции.

Каждый студент после теоретического блока имел возможность на модели челюсти самостоятельно установить свой первый имплантат и получить в подарок финальную фрезу.

ПРАВИЛА ДЛЯ АВТОРОВ

Цель журнала «Вестник ВГМУ» состоит в том, чтобы представить аудитории оригинальные работы ученых ВГМУ, Беларуси, СНГ и других стран, имеющие значение для медицины, нормальной жизнедеятельности и совершенствования преподавания в медицинском вузе. В журнале могут печататься статьи иностранных авторов на английском языке.

Журнал включен в Перечень научных изданий Республики Беларусь по медицинской, фармацевтической и биологической отраслям науки. Вне очереди публикуются научные статьи аспирантов последнего года обучения (включая статьи, подготовленные ими в соавторстве), при условии их полного соответствия требованиям, предъявляемым к научным публикациям издания, а также статьи подписчиков журнала.

Журнал печатает:

- **ПОЛНОРАЗМЕРНЫЕ ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ.** Такие статьи содержат результаты оригинальных исследований.

- **ОБЗОРЫ.** Цель обзоров состоит в изложении существа проблемы и ее важности. Изложение материала должно быть доступно специалистам смежных областей. Основное внимание обзоров следует сконцентрировать на результатах современных исследований.

- **КРАТКИЕ СООБЩЕНИЯ.** Раздел предназначен для публикации результатов наиболее актуальных научных исследований, представляющих особую важность. Желательно, чтобы краткое сообщение не превышало 3-х страниц машинописного текста и содержало не более 2-х иллюстраций. Сообщения должны быть исчерпывающими по своему содержанию и начинаться с небольшого вводного абзаца, убеждающего читателя в необходимости прочтения всего сообщения.

- **ПИСЬМА В РЕДАКЦИЮ.** Этот раздел журнала содержит материалы переписки с редакцией, касающиеся критических замечаний по поводу опубликованных в журнале работ, или информацию, требующую безотлагательного обсуждения.

- **НОВОСТИ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ.** В этом разделе освещаются вопросы, связанные с научным прогрессом в Республике Беларусь. Публикуются также материалы по результатам прикладных разработок, рекламируется продукция биотехнологической и фармацевтической промышленности и др.

- **ИНФОРМАЦИЯ О ПРЕДСТОЯЩИХ НАУЧНЫХ ФОРУМАХ.** Этот раздел предназначен для публикации предварительных сообщений о планируемых научных форумах, представляющих интерес для международной научной общественности.

Направление в редакцию ранее опубликованных или принятых к печати в других изданиях работ не допускается.

Требования к рукописи

Рукопись статьи представляется на русском языке (для иностранных авторов возможно изложение материала на английском языке). Объем полноразмерной оригинальной статьи должен составлять не менее 0,35 авторского листа (14 000 печатных знаков, включая пробелы между словами, знаки препинания, цифры и другие).

Рукопись статьи должна включать следующие элементы: титульный лист; резюме; введение, основную часть, выводы (заключение); список использованной литературы. В основной части полноразмерной оригинальной статьи должны быть выделены разделы: «Материал и методы», «Результаты», «Обсуждение». Структура основной части других видов статей определяется авторами. Рекомендуется в объемных работах использовать подзаголовки для того, чтобы выделить содержание отдельных частей.

Титульная страница должна содержать: название статьи; фамилию и инициалы автора (авторов); официальное название учреждений, в которых выполнялась работа; сведения об авторах; информацию об источнике поддержки в виде грантов, оборудования, лекарственных препаратов; декларацию об отсутствии конфликтов интересов; сведения о количестве страниц, рисунков и таблиц; адрес для корреспонденции.

Название статьи должно быть максимально кратким, информативным и точно определять содержание статьи. В сведениях для авторов указываются фамилии, имена, отчества авторов, ученые степени и звания, должности, место работы (название учреждения, кафедры, отдела). В адресе для корреспонденции приводятся рабочий почтовый индекс и адрес, место работы, телефоны, электронный адрес того автора, с кем следует вести редакционную переписку. Адрес для корреспонденции публикуется вместе со статьей.

Структурированное резюме оригинальной научной статьи, включающее разделы «Цель», «Материал и методы», «Результаты», «Заключение», «Ключевые слова» (не менее 6) на русском и английском языках (200-250 слов) должно ясно излагать содержание статьи и быть пригодным для опубликования отдельно от статьи, содержать ключевые слова, позволяющие индексировать данную статью. Резюме других видов статей (краткие сообщения, обзоры, случаи из практики) не структурируются, объем их должен составлять не менее 100-150

слов. Ключевые слова для составления указателя приводятся в соответствии со списком Medical Subject Heading (Медицинские предметные рубрики), принятые в Index Medicus. В резюме на английском языке обязательно указываются фамилии и инициалы авторов на английском языке. Резюме статей, ключевые слова на русском и английском языках, информация об авторах, а также пристатейные библиографические списки размещаются на сайте журнала и отсылаются редакцией в электронные информационные базы для индексации.

В разделе **«Введение»** оригинальной статьи должен быть дан краткий обзор литературы по данной проблеме, указаны не решенные ранее вопросы, сформулирована и обоснована цель работы и, если необходимо, указана ее связь с важными научными и практическими направлениями. Анализ источников, использованных при подготовке научной статьи, должен свидетельствовать о знании автором (авторами) статьи научных достижений в соответствующей области. Обязательными являются ссылки на работы других авторов. При этом должны присутствовать ссылки на публикации последних лет, включая зарубежные публикации в данной области.

Раздел **«Материал и методы»** должен содержать детальную характеристику объектов исследований, описание использованных методов, оборудования, диагностических и лечебных технологий. На методики исследований должны быть представлены ссылки. В клинических исследованиях, в которых диагностические или лечебные методы не соответствуют стандартным процедурам, должна быть приведена информация об одобрении комитетом по этике учреждения, в котором выполнялась работа, и об их соответствии Хельсинкской декларации 1975 г. Запрещается в статьях размещать информацию, позволяющую идентифицировать личность пациента (упоминать фамилию и инициалы пациентов, регистрационный номер карты). Представляемые для публикации фотографии также не должны позволять установить личность пациента. Авторы должны информировать пациентов (родителей, опекунов) о возможной публикации материалов, освещающих особенности его/ее заболевания и примененных методов диагностики и лечения, о гарантиях обеспечения конфиденциальности при размещении их в печатных и электронных изданиях, а также о том, что они после публикации будут доступны в сети Интернет. При направлении статьи в редакцию авторы обязаны предоставить письменное информированное согласие пациента на распространение информации и сообщить об этом в статье. При описании экспериментов на животных авторы обязаны размещать в статье информацию о соответствии содержания и использования лабораторных животных при проведении исследования международным, национальным правилам или правилам по этическому обращению с животными учреждения, в котором выполнялась работа. В конце раздела подробно описываются методы статистического анализа.

Раздел **«Результаты»** должен подробно освещать содержание исследований и их результаты, которые следует отражать, максимально используя рисунки и таблицы. При необходимости раздел может делиться на подразделы (с разъяснительными заголовками).

В разделе **«Обсуждение»** полученные результаты должны быть обсуждены с точки зрения их научной новизны и сопоставлены с соответствующими известными данными.

Выводы (заключение) должны быть четко сформулированными и в сжатом виде отражать основные полученные результаты с указанием их новизны, преимуществ и возможностей применения.

В статье следует применять только общепринятые символы и сокращения. При необходимости их использования аббревиатуру в тексте необходимо расшифровывать при первом упоминании (это относится также и к реферату). Сокращения в названии можно использовать только в тех случаях, когда это абсолютно необходимо. Все величины выражаются в единицах Международной Системы (СИ). Применяются только международные непатентованные названия лекарственных средств.

Список использованной литературы оформляется в соответствии с ГОСТом – 7.1-2003. Ссылки нумеруются согласно порядку цитирования в тексте. Порядковые номера ссылок должны быть написаны внутри квадратных скобок (например: [1, 2]). В оригинальных статьях желательно цитировать не более 15 источников, в обзорах литературы – не более 50. В статье не допускаются ссылки на авторефераты диссертационных работ или сами диссертации, т.к. они являются рукописями. Ссылки на тезисы и статьи в малотиражных региональных сборниках можно использовать только при крайней необходимости. Авторы несут полную ответственность за точность и полноту всех ссылок, и точность цитирования первоисточников. Редакция с целью максимального снижения неполноты или неточности информации в приводимых пристатейных списках литературы проводит в обязательном порядке проверку всех ссылок.

При подготовке текста статьи на компьютере необходимо использовать программы Microsoft Word или Word Perfect. Размеры полей: сверху — 2 см; снизу — 2 см; слева — 2 см; справа — 2 см. Рукопись печатается через 1,5-й интервал с выделенными жирным заголовками и подзаголовками. Все страницы, начиная с титульной, должны быть последовательно пронумерованы.

Таблицы должны быть отпечатаны на отдельном листе бумаги через один интервал, иметь название и подстрочные примечания (если необходимо).

Иллюстрации, формулы, уравнения и сноски, встречающиеся в статье, должны быть пронумерованы в

соответствии с порядком цитирования в тексте. На обороте каждой иллюстрации следует указать «верх», номер рисунка, а также фамилию первого автора. К каждому экземпляру статьи следует приложить по одному экземпляру иллюстраций.

В названиях таблиц и рисунков не должно быть сокращений. Непосредственно в таблицах (в заголовках строк или столбцов) или в их названии указывается, какие статистические показатели приводятся. Формат рисунка может быть TIFF, JPEG, CDR; разрешение не менее 300 dpi. Диаграммы выполненные в приложении MS Excel, необходимо представлять в формате .xls и в виде рисунка, что позволит провести их допечатную подготовку. Диаграммы печатаются при помощи монохромной печати, поэтому при их оформлении предпочтительно использовать узорную заливку объектов и различный характер линий.

Статья должна быть тщательно отредактирована и выверена. Рукопись должна быть визирована всеми авторами. Это означает, что все авторы берут на себя ответственность за содержание публикации.

За правильность приведенных данных ответственность несут авторы. В исключительных случаях, для оценки достоверности результатов, редакция может запросить копии документов, подтверждающих представляемые материалы.

Порядок рецензирования и публикации

Рукописи научных статей, поступающие в редакцию журнала, регистрируются, проходят первичную экспертизу и рецензирование.

1. Первичная экспертиза проводится ответственным секретарем. При первичной экспертизе рассматриваются сопроводительные документы, оценивается соответствие научной статьи профилю журнала, правилам оформления и требованиям, установленным редакцией журнала.

Рукописи, поступившие в редакцию журнала, проверяются также с помощью системы «Антиплагиат». При выявлении неправомерных заимствований, а так же при низком коэффициенте оригинальности текста (<75%) рукопись отклоняется от публикации.

При соответствии рукописи научной статьи профилю журнала, установленным правилам и требованиям она принимается редакцией и направляется на рецензию, в случае несоответствия – статья отклоняется без дальнейшего рецензирования.

2. Все статьи, поступившие в редакцию, проходят через институт рецензирования. Рукописи статей рецензируются независимыми экспертами. Рецензент назначается главным редактором (заместителем главного редактора) журнала из членов редколлегии, редакционного совета. В качестве рецензентов могут привлекаться также ведущие специалисты Республики Беларусь и стран СНГ, имеющие ученую степень. При необходимости могут назначаться дополнительные рецензенты, являющиеся специалистами в отдельных областях. Все рецензенты являются признанными специалистами по тематике рецензируемых материалов и имеют публикации по тематике рецензирования в течение последних трех лет. Рецензирование проводится конфиденциально. Срок рецензирования статей – 1 месяц.

Рецензенты представляют в редакцию рецензию, в которой должны быть отражены актуальность выполненных исследований, полнота и достоверность приводимых сведений, степень новизны результатов, их научная и практическая значимость, экономическая и социальная ценность, а также обоснованные выводы о статье в целом, замечания, а при необходимости – рекомендации по ее улучшению. Автору рецензируемой статьи предоставляется возможность ознакомиться с текстом рецензии. Оригиналы рецензий хранятся в редакции издания в течение пяти лет.

По запросам экспертных советов редакция предоставляет копии рецензий в ВАК Республики Беларусь, ВАК Российской Федерации, ВАК Украины.

3. Редакция в обязательном порядке высылает рецензии авторам рукописей в электронном или письменном виде без указания фамилии специалиста, проводившего рецензирование. Авторы имеют право указать в сопроводительном письме имена тех специалистов, кому, по их мнению, не следует направлять рукопись на рецензию в связи с возможным, как правило, профессиональным, конфликтом интересов. Данная информация является строго конфиденциальной и принимается во внимание редакцией при организации рецензирования.

4. Автор в срок до одного месяца должен представить в редакцию исправленную рукопись, которая направляется на повторное рецензирование. После получения положительного заключения рецензентов окончательное решение о целесообразности публикации принимается редакционной коллегией. В случае несогласия с мнением рецензентов автор имеет право предоставить аргументированный ответ в редакцию журнала, который будет рассмотрен редакционной коллегией. Неспособность или нежелание автора учесть обоснованные замечания и рекомендации рецензентов является основанием для отклонения статьи от дальнейшего рассмотрения.

В спорных случаях статья может направляться на рецензию дополнительному рецензенту. На заседании редакционной коллегии при решении вопроса о допуске статьи к публикации рассматриваются все полученные

рецензии, а также ответы автора. В случае получения трех отрицательных рецензий рукопись больше не рассматривается редакционной коллегией.

5. После принятия редакционной коллегией решения о допуске статьи к публикации ответственный секретарь информирует об этом автора и указывает сроки публикации. В случае отказа в публикации статьи редакция направляет автору мотивированный отказ.

6. Редакция оставляет за собой право сокращения публикуемых материалов и адаптации их к рубрикам журнала. Подготовленный к печати текст статьи, с внесенными редакцией правками, направляется авторам для одобрения в формате PDF по электронной почте. Авторские правки и подтверждение должно поступить в редакцию в течение 5 дней. По истечении указанного срока редакция будет считать, что авторы одобрили текст.

7. Статьи публикуются в порядке поступления, с учетом сроков доработки рукописей авторами после рецензирования. Вне очереди публикуются научные статьи аспирантов последнего года обучения (включая статьи, подготовленные ими в соавторстве), при условии их полного соответствия требованиям, предъявляемым к научным публикациям издания.

Рекламные статьи, а также статьи, финансируемые фирмами-производителями и/или их дистрибьютерами, к рассмотрению не принимаются.

Авторам отсылается электронная копия опубликованной статьи в формате PDF.

Подписано в печать 04.04.2017 г. Формат 1/8.

Бумага офсетная. Гарнитура «Таймс». Усл.печ. л. 14,65.

Тираж 200 экз. Заказ

Издатель и полиграфическое исполнение УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет».

Лицензия ЛП № 02330/453 от 30.12.2013.

Адрес: пр-т Фрунзе, 27, 210023, г. Витебск.

При перепечатке материалов ссылка на «Вестник ВГМУ» обязательна.
