



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

2018
Том 17
№6
**(ноябрь-
декабрь)**



МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ
ВИТЕБСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ

ВЕСТНИК

Витебского государственного медицинского университета

Том 17 №6 (ноябрь-декабрь) 2018

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

Рецензируемый научно-практический журнал. Основан в 2002 году. Периодичность – 6 раз в год.

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

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

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;
Конева Н.Ю. – зам. главного редактора, д.б.н., профессор,
г.Витебск, Беларусь;
Коноров М.Р. – д.м.н., профессор, г.Витебск, Беларусь;
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:

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.С.-Петербург, Россия;
Генералов И.И. – д.м.н., профессор, г.Витебск, Беларусь;
Клочкова С.В. – д.м.н., профессор, г.Москва, Россия;
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. – 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;
Никитюк Д.Б. – д.м.н., профессор, г.Москва, Россия;
Новиков Д.К. – 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;
Рубникович С.П. – д.м.н., профессор, г.Минск, Беларусь;
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:

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

Адрес редакции: 210009, г. Витебск, пр-т Фрунзе, 27, тел. +375 (212) 55-10-95, <http://vestnik.vsmu.by>, e-mail: vestnik.vsmu@tut.by
Журнал зарегистрирован в Министерстве информации Республики Беларусь, свидетельство № 108 от 22.04.2009 г.

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. 17 No. 6 (November-December) 2018

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

Peer-reviewed scientific-practical journal. Founded in 2002. Frequency – 6 time per year.
The founder and publisher – Educational Establishment «Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University»

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

Editor-in-chief:

Shchastnyi Anatoliy 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;
Kozlovskiy 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;
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:

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;
Klochova S.V. – PhD, MD (Medicine), professor, Russia;
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;
Matlavskaya I. – professor, Poland;
Mrochek A.G. – PhD, MD (Medicine), professor, Belarus;
Myadelets O.D. – PhD, MD (Medicine), professor, Belarus;
Nikityuk D.B. – PhD, MD (Medicine), professor, Russia;
Novikov D.K. – PhD, MD (Medicine), professor, Belarus;
Osochuk S.S. – PhD, MD (Medicine), associate professor, Belarus;
Piskun D.V. – PhD (Medicine), Germany;
Rubnikov S.P. – PhD, MD (Medicine), professor, Belarus;
Sivrev D.P. – PhD, MD (Medicine), professor, Bulgaria;
Titov L.P. – PhD, MD (Medicine), professor, Belarus;
Tsyrukunov 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: 210009, Vitebsk, Frunze ave., 27, phone: (0212) 55-10-95, <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 № 108, dated 22.04.2009.

© Vitebsk State Medical University, 2018

СОДЕРЖАНИЕ

Обзор

Шейбак В.М., Павлюковец А.Ю.
Биохимическая гетерогенность Т-лимфоцитов

Небылицин Ю.С., Лазуко С.С., Кутько Е.А.
Синдром ишемии-реперфузии нижних конечностей

Побяржин В.В., Пашинская Е.С., Семенов В.М., Гончаров А.Е.
Методологические аспекты постановки онкологических моделей в условиях эксперимента

Биохимия

Яроцкая Н.Н., Косинец В.А., Королькова Н.К.
Изменение функциональной активности печени при экспериментальном распространенном гнойном перитоните на фоне применения энерготропной коррекции

Патологическая анатомия

Кузьменко-Москвина Ю.А.
Морфологическая, иммуногистохимическая и иммунофлюоресцентная диагностика типичных ранних и поздних элементов склероатрофического лишая

Дмитриева М.В., Летковская Т.А., Чиж К.А., Брагина З.Н.
Малоиммунный гломерулонефрит с полулуниями: клинико-морфологический и прогностический анализ

Педиатрия

Клименко В.А., Дробова Н.Н.
Течение муковисцидоза у детей в зависимости от мутаций генов-модификаторов воспаления интерлейкина-4 и интерлейкина-10

Клименко В.А., Карпушенко Ю.В., Кожина О.С.
Результаты исследования IV фазы ISAAC (International study of asthma and allergy in childhood) в Харьковском регионе

Нервные болезни

Алейникова Н.Е., Бойко А.В., Нижегородова Д.Б., Пономарев В.В., Ванслав М.И., Устемчук А.М., Игнатович Т.В., Кузнецова Т.Е., Гладкова Ж.А., Зафранская М.М.

CONTENTS

Review

7 Sheibak V.M., Pauliukavets A.Y.
Biochemical heterogeneity of T-lymphocytes

18 Nebylitsin Y.S., Lazuko S.S., Kut'ko E.A.
Ischemia-reperfusion syndrome of lower limbs

32 Pabiarzhyn V.V., Pashinskaya E.S., Semenov V.M., Hancharou A.Y.
Methodological aspects of setting up oncological models under experimental conditions

Biochemistry

46 Yarotskaya N.N., Kosinets V.A., Karalkova N.K.
Changes in the functional activity of the liver in experimental generalized purulent peritonitis with the application of energotropic correction

Pathologic anatomy

55 Kuzmenka-Maskvina Y.A.
Morphologic, immunohistochemical and immunofluorescent diagnosing of typical early and advanced scleroatrophic lichen features

64 Dmitrieva M.V., Letkovskaya T.A., Chyzh K.A., Bragina Z.N.
Pauci-immune glomerulonephritis with crescents: clinical, morphological and prognostic analysis

Pediatrics

77 Klymenko V.A., Drobova N.N.
Cystic fibrosis course in children depending on the mutations of interleukin-4 and interleukin-10 inflammation modifier genes

85 Klymenko V.A., Karpushenko J.V., Kozhyna O.S.
The results of the phase IV study of ISAAC (International study of asthma and allergy in childhood) in Kharkov Region

Neurology

92 Aleinikava N.Y., Boika A.V., Nizheharodava D.B., Ponomarev V.V., Vanslau M.I., Ustiamchuk A.M., Ihnatovich T.V., Kuznetsova T.Y., Hladkova Z.A., Zafranskaya M.M.

Получение токсической хронической модели
синдрома паркинсонизма у крыс

Болезни уха, горла и носа

**Макарина-Кибак Л.Э., Еременко Ю.Е.,
Корнелюк О.А., Мириленко А.П.**

Определение критерия неблагоприятного течения
послеоперационного периода у пациентов с
орофарингеальным уровнем обструкции

Технология получения лекарств.

Фармацевтическая химия, фармакогнозия.

Организация фармацевтического дела

Адаменко Г.В., Бурак И.И., Стриго Е.С.

Анализ ассортимента и стоимости
антисептических средств для наружного
применения

Педагогика и психология высшей школы

Королькова Н.К., Бизунков А.Б.

Компетентностный подход и контроль качества
медицинского образования: исторический аспект
и анализ современного состояния проблемы

Новости

Правила для авторов

The obtaining of toxic chronic model of parkinsonism
syndrome in rats

Ear, nose and throat diseases

**100 Makaryna-Kibak L.E., Yaromenka Y.E.,
Karnialiuk V.A., Mirylenka A.P.**

Determining the criterion of the unfavourable
course of the postoperative period in patients with
oropharyngeal level of obstruction

Technology of drugs production.

Pharmaceutical chemistry, pharmacognosy.

Organization of pharmacy

106 Adamenko G.V., Burak I.I., Strigo E.S.

Assortment and cost analysis of antiseptic agents for
external use

Pedagogics and psychology of higher school

112 Karalkova N.K., Bizunkov A.B.

Competency-based approach and quality control of
medical education: historical aspect and analysis of
the modern state of the problem

121 News

127 Instructions for authors

БИОХИМИЧЕСКАЯ ГЕТЕРОГЕННОСТЬ Т-ЛИМФОЦИТОВ

ШЕЙБАК В.М., ПАВЛЮКОВЕЦ А.Ю.

Гродненский государственный медицинский университет, г. Гродно, Республика Беларусь

Вестник ВГМУ. – 2018. – Том 17, №6. – С. 7-17.

BIOCHEMICAL HETEROGENEITY OF T-LYMPHOCYTES

SHEIBAK V.M., PAULIUKAVETS A.Y.

Grodno State Medical University, Grodno, Republic of Belarus

Vestnik VGMU. 2018;17(6):7-17.

Резюме.

После активации лимфоциты переходят в состояние высокой биохимической активности, преимущественно перепрограммируя продукцию АТФ с окислительного фосфорилирования на субстратное при интенсификации аэробного гликолиза. Повышенный метаболизм глюкозы в активированных Т-лимфоцитах требует координации множества программ транскрипции ферментов для одновременного увеличения скоростей гликолиза, глютаминолиза, синтеза липидов и холестерина, одновременно предотвращая окисление липидов и отток стеролов. Регуляция и переключение метаболических путей в Т-лимфоцитах связаны с процессами пролиферации и дифференцировки, которые контролируются транскрипционными и посттранскрипционными механизмами и определяют как метаболизм, так и функцию / дифференцировку Т-лимфоцитов. Кроме того, метаболический статус организма в целом (обеспеченность нутриентами, стресс) может влиять на метаболизм лимфоцитов, изменяя их функциональную активность. Изучение влияния метаболической регуляции, роли микроокружения, обеспеченности субстратами на функциональную активность Т-лимфоцитов способствует раскрытию новых подходов к терапии патологии иммунной системы.

Ключевые слова: Т-лимфоциты, метаболизм, аэробный гликолиз, регуляция метаболизма Т-лимфоцитов.

Abstract.

After the activation lymphocytes pass to a state of high biochemical activity, mainly reprogramming the ATP production from oxidative phosphorylation to aerobic glycolysis. The increased glucose metabolism in activated T-lymphocytes requires coordinating a variety of enzyme transcription programs to simultaneously increase glycolysis rates, glutaminolysis, lipid synthesis and cholesterol synthesis at the same time preventing lipid oxidation and sterol outflow. Regulation and switching of metabolic pathways in T-lymphocytes are associated with proliferation and differentiation processes, which are controlled by both transcriptional and post-transcriptional mechanisms, and determine both metabolism and the function / differentiation of T-lymphocytes. In addition, the metabolic status of the organism as a whole (nutrients supply, stress) can affect the metabolism of lymphocytes changing their functional activity. The study of the influence of metabolic regulation, the role of the microenvironment, the supply of substrates for the functional activity of T-lymphocytes promotes the revealing of new approaches in the therapy of the immune system pathology.

Key words: T-lymphocytes, metabolism, aerobic glycolysis, regulation of T-lymphocytes metabolism.

Лимфоциты являются эффекторным звеном иммунной системы. После активации лимфоциты переходят в состояние высокой биохимической активности. Это связано не только с необходимостью быстрого деления клеток, но и с образованием многих стимуляторов и меди-

аторов, характерных для иммунной системы, включая антитела, лимфотоксины и хемотаксические факторы. В основе формирования специфических субпопуляций клеток лежит перестройка метаболических путей и приоритетов. Интенсификация биохимических процессов по-

сле иммунной стимуляции требует продукции значительного количества энергии. В лимфоцитах увеличивается синтез и потребление АТФ [1]. Уже через несколько секунд после контакта лимфоцита с антигеном или митогеном в клеточной мембране происходит активация Na^+ , K^+ -АТФазы, обеспечивающая поступление ионов K^+ в клетку против градиента концентрации [2]. Повышается активность мембранных метилтрансфераз, возрастает поток Ca^{2+} внутрь клетки, что является необходимым условием для увеличения активности гуанилатциклазы и, напротив, ингибирования аденилатциклазы [3]. Снижение концентрации АТФ в течение первого часа после воздействия митогена объясняется стимуляцией энергопотребляющих ионных насосов, активацией (фосфорилирование) ферментов различных метаболических путей, синтезом ростовых факторов и трафиком их рецепторов. Кроме того, при распознавании эффектором клетки-мишени осуществляется локальный выброс АТФ в межклеточное пространство в зону контакта взаимодействующих клеток [4].

В качестве основных источников энергии Т-лимфоциты используют глюкозу и/или глутамин [5], в меньшей степени кетоновые тела и жирные кислоты. Глюкоза, как известно, является наиболее важным нутриентом для поддержания жизнеспособности, активации и продукции цитокинов лимфоцитами. Глюкоза – основной субстрат для генерации АТФ, источник углерода для синтеза других макромолекул, таких как нуклеиновые кис-

лоты и фосфолипиды, а также может быть использована для синтеза рибозы [6]. Стимулированные Т-лимфоциты должны быстро расти, пролиферировать и осуществлять эффекторную функцию. Показано, что иммунизация приводит к быстрому увеличению экспрессии транспортера глюкозы 1 (GLUT1), что обеспечивает увеличение поглощения глюкозы и ее метаболизм при стимуляции Т-лимфоцитов *in vivo* и *in vitro* [7, 8]. В результате метаболические возможности Т-лимфоцитов резко возрастают после активации, и они активно синтезируют внутриклеточные компоненты, включая липиды мембран, нуклеиновые кислоты и белки. Т-лимфоциты перестраивают метаболизм на аэробный гликолиз, обеспечивающий достаточные количества метаболитов-предшественников для синтеза макромолекул [7].

Исследования лейкоцитов периферической крови, которые впервые были выполнены О. Варбургом, показали, что гликолиз и производство лактата, в частности, усиливаются при митогенной стимуляции. Он был одним из первых, кто отметил сходство метаболизма лейкоцитов с опухолевыми клетками [2]. В покое лейкоциты в основном используют окислительное фосфорилирование, тогда как активация приводит к перепрограммированию, и в качестве основной метаболической программы используется аэробный гликолиз (рис. 1) [2, 9].

Поскольку в этих клетках преобладал гликолиз даже в присутствии кислорода, эта мета-

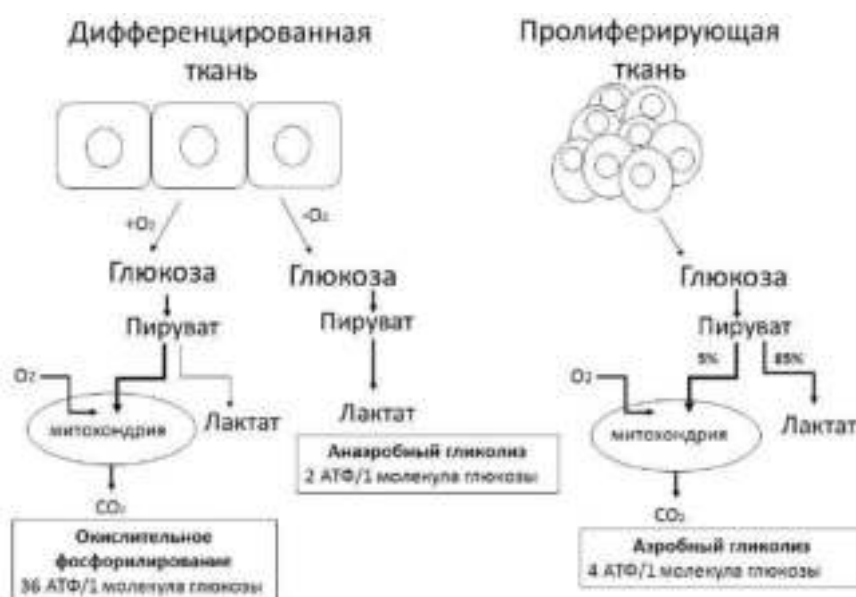


Рисунок 1 – Различия в метаболизме глюкозы в клетках дифференцированных и пролиферирующих тканей (модифицировано из [9]).

болическая программа была названа «аэробным гликолизом» [10]. Переход от окислительного метаболизма, включающего окислительное фосфорилирование, к гликолизу идеально подходит для быстро пролиферирующих клеток, так как гликолиз дает промежуточные метаболиты, которые в дальнейшем можно использовать для биосинтеза липидов и заменимых аминокислот (рис. 2). Кроме того, он обеспечивает быструю наработку АТФ: реакции аэробного гликолиза происходят в 100 раз быстрее, чем окисление глюкозы, включающее окислительное фосфорилирование. Чтобы обеспечить продолжение функционирования ЦТК, вместо молекул цитрата, удаляемых для получения мембранных липидов, увеличивается окисление глутамин (анаплероз), который может поставлять α -кетоглутарат в ЦТК [11].

При активации гликолиз повышается одновременно с окислением глутамин, тогда как β -окисление жирных кислот резко уменьшается и предпочтительным является синтез липидов, а не окисление. В конце иммунного ответа большинство Т-лимфоцитов погибают. Оставшиеся становятся клетками памяти, и их метаболизм повторно перепрограммируется, возвращаясь к исходному состоянию, характеризующемуся преимущественным окислением липидов и окислительным фосфорилированием [3].

Как поддержание базального окислительного метаболизма в покое, так и переход на поглощение глутамин, глюкозы и аэробный гликолиз в активированных Т-лимфоцитах являются высокорегулируемыми процессами, ко-

торые контролируются на уровне транскрипции и посттрансляционно. Эти внутриклеточные процессы поддерживаются специфическими внеклеточными сигналами. Активированные лимфоциты более активно захватывают из внешней среды соответствующие нутриенты для удовлетворения своих функциональных потребностей [3].

Метаболизм Т-лимфоцитов тесно связан с их дифференцировкой и функциональной активностью. Показаны метаболические различия в субпопуляциях лимфоцитов, что находит отражение в их специфических функциях [1]. Развитие лимфоцитов включает в себя множество селекционных этапов до появления наивных покоящихся Т-лимфоцитов. Эта специфическая селекция на начальных этапах сопровождается индукцией транспортера глюкозы GLUT1, что является маркером стимуляции. Активность GLUT1 затем снижается, поскольку клетки созревают до покоящихся CD4+CD8+; CD4+CD8- и CD4-CD8+ Т-лимфоцитов [4].

После выхода из тимуса зрелые покоящиеся Т-лимфоциты характеризуются низкими метаболическими потребностями. Наивные покоящиеся Т-лимфоциты довольно медленно мигрируют через вторичные лимфоидные ткани, осуществляя иммунный надзор. Для поддержания основного энергетического обмена Т-лимфоциты нуждаются во внешних клеточных сигналах. При распознавании родственного антигена МНС в присутствии ко-стимулирующих сигналов Т-лимфоциты растут, пролиферируют и, в конечном счете, дифференцируются на от-



Рисунок 2 – Метаболические программы покоящихся и активированных Т-лимфоцитов.

дельные субпопуляции, которые обладают уникальными функциями в поддержании и регуляции иммунного гомеостаза [12]. Активированные CD4+ Т-лимфоциты реагируют на специфические сигналы цитокинов, чтобы дифференцироваться в отдельные субпопуляции Т-лимфоцитов (Т-хелперы), которые активируют клеточный, гуморальный и иммунитет слизистых или подавляют активацию цитотоксических Т-лимфоцитов и чрезмерные воспалительные реакции [13]. Активированные CD8+ Т-лимфоциты также дифференцируются, что обеспечивает антиген-специфическую цитолитическую защиту против внутриклеточных патогенов и опухолевых клеток. Важно отметить, что и CD4+, и CD8+ Т-лимфоциты способны стать долгоживущими клетками памяти, которые обеспечивают защиту от повторной инфекции. В последнее время становится все более очевидным, что активация Т-лимфоцитов не приводит к одинаковому метаболическому перепрограммированию при всех состояниях. В дополнение к своим различным функциям специфические линии Т-лимфоцитов также обладают уникальными метаболическими профилями, которые необходимы для их функции и модуляции иммунного ответа. Эти метаболические изменения в значительной степени способствуют и необходимы для нормального функционирования Т-лимфоцитов (табл. 1). Чрезмерно повышенное поглощение глюкозы Т-хелперами путем трансгенной экспрессии GLUT1 может приводить к увеличению продукции цитокинов и пролиферации, в конечном счете, к лимфопролиферативным состояниям [7, 14]. И наоборот, дефицит нутриентов или прямое метаболическое ингибирование предотвращают активацию и

пролиферацию Т-лимфоцитов [14]. Если это длительное воздействие, происходит опустошение субпопуляции Т-лимфоцитов или их гибель [15].

Эффекторные CD4+ Т-хелперы 1, Т-хелперы 2 и Т-хелперы 17 и регуляторные CD4+ Т-лимфоциты являются субпопуляциями CD4+ Т-лимфоцитов и имеют метаболические различия, возникающие в результате реализации различных программ метаболизма, координируемых мишенью рапамицина в клетках млекопитающих (mTOR) и АМФ-активируемой протеинкиназой (AMPK). Так, обработка Т-лимфоцитов рапамицином, с целью подавления mTORC1, препятствует росту и пролиферации эффекторных Т-лимфоцитов, их анергии, но, одновременно, способствует образованию регуляторных Т-лимфоцитов [16]. Дифференцированные клетки Т-хелперы 1, Т-хелперы 2 и Т-хелперы 17, культивируемые *in vitro* с IL-2, имели более высокое содержание GLUT1 по сравнению с регуляторными Т-лимфоцитами [7]. Хотя уровень гликолиза в регуляторных Т-лимфоцитах выше, чем у наивных Т-лимфоцитов, эти клетки являются субпопуляцией CD4+ Т-лимфоцитов с наименее выраженным гликолитическим процессом. Важно отметить, что у регуляторных Т-лимфоцитов скорость окисления липидов и митохондриальный мембранный потенциал высокие, что согласуется с уровнем фосфорилированного AMPK [17].

Увеличение поглощения глюкозы *in vivo* приводит к активации эффекторных Т-лимфоцитов. И наоборот, ингибирование метаболизма глюкозы либо путем депривации глюкозы в клеточных культурах, либо путем добавления ингибитора гексокиназы способно селективно ингибировать эффекторные Т-лимфоциты *in*

Таблица 1 – Преобладающая метаболическая программа и ключевые регуляторы субпопуляций Т-лимфоцитов

Тип клеток	Наивные лимфоциты	Т-хелперы1	Т-хелперы2	Т-хелперы17	Т-регуляторные лимфоциты	Т-лимфоциты памяти
Преобладающая метаболическая программа	Окислительное фосфорилирование различных субстратов	Аэробный гликолиз	Аэробный гликолиз	Аэробный гликолиз	Окисление липидов	Окисление липидов
Ключевой регулятор		mTORC1	mTORC2	mTORC1 HIF-1 α	AMPK	TRAF6 AMPK
Функция	Иммунологический надзор	Клеточный иммунный ответ	Гуморальный иммунный ответ	Местный иммунитет слизистых и воспаление	Супрессия эффекторных лимфоцитов	Иммунологическая память

vitro [18]. Модуляция липидного обмена также может влиять на судьбу эффекторных и регуляторных Т-лимфоцитов, поскольку добавление липидов *in vitro* подавляет генерацию эффекторных Т-лимфоцитов, но усиливает генерацию регуляторных Т-лимфоцитов, а ингибирование карнитинпальмитоилтрансферазы 1a (CPT1a) и митохондриального β -окисления избирательно тормозит дифференцировку регуляторных Т-лимфоцитов [7]. Баланс клеточного метаболизма с помощью сигнализации mTOR/AMPK также имеет важные последствия для метаболической регуляции соседних клеток. Cobbold et al. [18] показали, что взаимодействие между антиген-представляющими клетками и регуляторными Т-лимфоцитами приводит к истощению незаменимых аминокислот в соседних наивных Т-лимфоцитах [18]. Депривация этих аминокислот нарушает сигнализацию mTORC1 и формирование отдельных субпопуляций Т-лимфоцитов. Регуляторные Т-лимфоциты могут использовать метаболические пути для подавления эффекторных клеток, изменяя метаболизм глутатиона и индуцируя окислительный стресс [15].

Динамические изменения в покое CD8⁺ Т-лимфоцитах приводят к сдвигам в клеточном метаболизме и переключению с окислительного метаболизма на аэробный гликолиз [19]. Этот переход необходим для поддержания роста и дифференцировки в цитотоксические Т-лимфоциты, способные делиться каждые шесть-восемь часов и продуцировать воспалительные цитокины и цитолитические гранулы перфорина и гранзима В. Однако затем большинство CD8⁺ цитотоксических Т-лимфоцитов подвергается апоптозу, хотя небольшой процент дополнительно дифференцируется в долгоживущие покое CD8⁺ Т-лимфоциты. На этой фазе CD8⁺ Т-лимфоциты больше не подвергаются быстрому росту, требующему высокой активности анаболических процессов и эффективной генерации энергии для поддержки основных клеточных функций и предотвращения гибели клетки. CD8⁺ Т-лимфоциты памяти для поддержания жизнеспособности используют окисление липидов. Т-лимфоциты памяти экспрессируют высокие уровни CPT1a, а его ингибирование уменьшает митохондриальную функцию и снижает выживаемость клеток памяти [20]. Многие из этих метаболических изменений регулировались путем индукции биогенеза митохондрий и повышения способности клеток к окислительному метаболизму при метаболическом стрессе. Таким

образом, метаболическое перепрограммирование CD8⁺ Т-лимфоцитов из гликолитического состояния обратно в окислительное состояние само по себе является ключевым, что обеспечивает выбор и выживание клеток памяти [21].

Повышенный метаболизм глюкозы в активированных Т-лимфоцитах требует координации множества программ транскрипции ферментов для одновременного увеличения скоростей гликолиза, глутаминолиза, синтеза липидов и холестерина, одновременно предотвращая окисление липидов и отток стеролов [21].

Уже на этапе ранней дифференцировки в тимусе необходимы сигнальные пути, в том числе сигнальный путь Notch. Механизм, с помощью которого он способствует метаболизму глюкозы в тимоцитах, не совсем ясен, но Notch может активировать фосфатидилинозитол-3-киназу (PI3K)/Akt, которая является одним из основных регуляторов метаболизма глюкозы и аэробного гликолиза в лимфоцитах [21]. Показано, что ингибирование PI3K или Akt в тимоцитах подавляло метаболизм глюкозы, тогда как сверхэкспрессия Akt1 восстанавливала метаболизм глюкозы в Notch-дефицитных тимоцитах [22].

Показано, что удаление Т-лимфоцитов из своей физиологической среды ведет к интернализации и деградации GLUT1, а также других транспортеров, что уменьшает поглощение нутриентов для поддержания жизнеспособности. Показано участие в этом процессе как рецептора к IL-7 (IL-7R), так и Т-клеточного рецептора (TCR) [8]. Обычно Т-лимфоциты, которые не получают сигналов из своего окружения, уменьшают метаболизм, подвергаются атрофии и апоптозу [23]. IL-7R экспрессируется стромальными клетками в зонах, содержащих Т-лимфоциты, и играет ключевую роль в предотвращении атрофии и поддержании метаболизма покоящихся Т-лимфоцитов [5]. Регуляция гликолиза IL-7R имеет решающее значение для метаболизма Т-лимфоцитов *in vivo* [6]. В дополнение к метаболизму глюкозы покоящиеся Т-лимфоциты окисляют аминокислоты. Индуцированная IL-7 пролиферация CD8⁺ Т-лимфоцитов зависит от доступности аминокислот, и транспортеры аминокислот являются специфическими мишенями передачи сигналов IL-7 [24]. IL-7 воздействует как на периферические наивные Т-лимфоциты, так и Т-лимфоциты памяти. Дефекты в этом пути являются причиной серьезного комбинированного иммунодефицита у людей. Взаимодействие

лиганда с рецептором IL-7R приводит к активации тирозинкиназы человека Janus 3 (JAK3) и фосфорилированию сигнального преобразователя и активатора транскрипции-5 (STAT5), а также торможению активации пути PI3K/Akt [25].

TCR также выполняет сигнальную функцию в гомеостазе Т-лимфоцитов [13]. В отсутствие сигнала TCR экспрессия Glut1 уменьшается, что ограничивает поглощение глюкозы и последующую базовую продукцию АТФ и активность биосинтетических процессов, что приводит к метаболическому стрессу и апоптозу [14, 23, 25]. Кроме того, активация TCR индуцирует экспрессию факторов транскрипции семейства Мус, активирующего протеин-4 (AP4), индуцируемого гипоксией фактора-1 α (HIF1 α), регуляторного фактора интерферонов 4 (IRF4) и стерол-регуляторных элемент-связывающих белков (SREBP), которые регулируют экспрессию метаболических генов в Т-лимфоцитах [15].

Фактор онкогенной транскрипции с-Мус регулирует многие гены, которые играют важную роль как в клеточном цикле, так и в метаболизме. Среди процессов, регулируемых с-Мус, метаболизм глюкозы, глутамин и биогенез митохондрий. В частности, с-Мус может регулировать экспрессию всех генов, связанных с гликолизом, включая Glut1, лактатдегидрогеназу А (LDHA), изоформу 2 пируваткиназы (PKM2) и гексокиназу 2 [26], а также глутаминазу и переносчики глутамин SLC3a2, SLC5A1 и SLC7A1 [27]. В Т-лимфоцитах с-Мус индуцируется при активации и способствует росту Т-лимфоцитов и входу в клеточный цикл. Острая генетическая делеция с-Мус в зрелых Т-лимфоцитах ингибировала усиление экспрессии гликолитических и глутаминолитических генов в стимулированных

Т-лимфоцитах, что коррелировало с отсутствием пролиферации клеток с дефицитом с-Мус [28].

В дополнение к стимулированию экспрессии всей программы гликолиза с-Мус необходим для активации глутаминолиза в Т-лимфоцитах и наработки α -кетоглутарата [28]. Этот путь может быть особенно важен в аэробном гликолизе в процессе анаплероза в цикле Кребса; он также позволяет поддерживать непрерывный поток цитрата, с его последующим использованием в синтезе липидов. Кроме того, α -кетоглутарат может служить предшественником в синтезе полиаминов [29]. с-Мус необходим для индуцирования глутаминазы 2 (Gls2) [28, 29]. Glsl, которая также является мишенью с-Мус, может быть индуцирована позднее, что имеет важное значение для пролиферации Т-лимфоцитов (табл. 2) [29].

Несмотря на важнейшую роль с-Мус в метаболизме глюкозы и глутамин, митохондриальные пути, такие как ЦТК и окислительное фосфорилирование, несущественно изменялись при дефиците с-Мус при активации Т-лимфоцитов. Изменения в липидном обмене также не полностью зависели от с-Мус [28]. Таким образом, очевидно, что существуют дополнительные механизмы регуляции транскрипции, которые индуцируют биогенез митохондрий и активируют гены, необходимые для биосинтеза ферментов ЦТК и системы транспорта электронов. Обнаружен ряд дополнительных транскрипционных факторов, включая несколько рецепторов ядерных гормонов, для регулирования этих аспектов метаболизма Т-лимфоцитов [28].

Регуляция липидного обмена частично контролируется через печеночные рецепторы X (LXR) – LXR α и LXR β , которые являются членами семейства ядерных рецепторов и регулируют синтез

Таблица 2 – Роль транскрипционных и посттранскрипционных регуляторов метаболизма Т-лимфоцитов

Транскрипционные регуляторы	Посттранскрипционные регуляторы
Notch: активация метаболизма глюкозы во время развития Т-лимфоцитов	PDKVAkt: \uparrow поверхностная экспрессия Glut1
С-Мус: \uparrow гликолиз, \uparrow метаболизм глутамин, \uparrow экспрессия генов клеточного цикла	mTOR: \uparrow поверхностная экспрессия Glut1, активация эффекторных Т-лимфоцитов
ERR α : \uparrow митохондриальное окисление	AMPK: ингибирование mTOR, активация регуляторных Т-лимфоцитов
LXR: \downarrow активация Т-лимфоцитов, \uparrow отток липидов и холестерина	ERK: \uparrow поглощение глутамин
HIF-1 α : \uparrow экспрессии гликолитических генов, активация Т-хелперов 17	

холестерина и липидный гомеостаз. В частности, LXR способствуют оттоку холестерина, который уравнивает пути синтеза липидов, стимулированные транскрипционными факторами SREBP. В Т-лимфоцитах антигенная стимуляция сопровождается снижением активности LXR и повышенной активностью пути SREBP-2 для синтеза липидов и холестерина, т.е. они являются ключевыми регуляторами пролиферации Т-лимфоцитов [30].

Хотя Akt и mTORC1 могут влиять на транскрипцию генов, эти киназы также способствуют метаболизму глюкозы через посттрансляционные эффекты. Akt играет ключевую роль в регуляции активности переносчиков глюкозы и гликолиза. Akt в классических метаболических тканях способствует транслокации GLUT4 на поверхность клетки в ответ на сигнализацию инсулином. Т-лимфоциты обычно не экспрессируют Glut4 и вместо этого преимущественно экспрессируют Glut1. Akt также способствует трафику GLUT1 к поверхности клетки и предотвращает интернализацию GLUT1 при активации [21]. Akt может аналогичным образом способствовать появлению на клеточной поверхности транспортных белков для аминокислот [31]. Механизм, с помощью которого Akt контролирует увеличения экспрессии GLUT1 в лимфоцитах, не определен [32]. Белки Rab играют важную роль во взаимодействии с GLUT1. Например, Rab11 может способствовать увеличению эндосомного переноса GLUT1 на клеточную поверхность [33], тогда как Rab7 способствует внедрению GLUT1 в лизосомы [34]. В дополнение к стимулированию перемещения GLUT1, Akt может напрямую фосфорилировать гликолитические ферменты, активация которых способствует увеличению гликолитического потока. Например, гексокиназа II (HKII) может быть фосфорилирована Akt в митохондриях [35, 36].

Активация mTORC1 также способствует стимуляции аэробного гликолиза и координации роста клеток [37]. Одной из основных функций комплекса mTORC1 является фосфорилирование eIF4E связывающих белков (4EBP) и p70S6 киназы (p70S6K). Активация p70S6K может опосредовать многие прямые гликолитические эффекты mTORC1, поскольку дефицит p70S6K предотвращает повышение гликолиза в клетках [38]. SREBP2 также активируется mTORC1 для стимулирования синтеза липидов [39]. Это увеличение синтеза липидов координируется с зависимой от Akt/mTORC1 экспрессией CPT1a. В качестве фактора, ограничивающего скорость окисления

липидов в митохондриях, снижение активности CPT1a сохраняет липиды для пролиферации, а не для генерации АТФ [40]. Обработка рапамицином тормозит активность mTORC1 и предотвращает увеличение гликолиза при активации Т-лимфоцитов и блокирует рост и пролиферацию Т-лимфоцитов, вызывая состояние анергии [41].

В то время как mTORC1 стимулирует анаболические процессы и рост клеток, АМПК является широко известным регулятором энергетического статуса, который стимулирует выработку энергии за счет катаболизма [42]. Комплекс АМПК активируется увеличением отношения АМФ/АТФ. Ряд киназ может активировать АМПК, включая киназу B1 (LKB1) и кальций/кальмодулин-зависимую киназу протеинкиназы II (CaMKKII) [43]. LKB1 был впервые идентифицирован как супрессор опухолей, ответственный за синдром Пицца-Джегерса, аутомно-доминантное расстройство, которое приводит к кишечным гамартомам, повреждению мукозы и повышенному риску спонтанных эпителиальных карцином [44]. LKB1 необходим для активации АМПК в условиях клеточного стресса [45], а Т-специфичный нокаут LKB1 приводит к частичной блокировке развития тимоцитов и общему уменьшению количества периферических Т-лимфоцитов [46-48]. В LKB1-дефицитных Т-лимфоцитах нарушен гликолиз и липидный обмен: увеличена скорость гликолиза и снижена способность адаптивно повышать окисление липидов при стрессе [48]. АМПК α 1-/- Т-лимфоциты характеризовались уменьшением способности реагировать на метаболический стресс и переходить от гликолитического и анаболического метаболизма к окислению липидов и катаболизму [48]. Мишенью АМПК является в том числе ацетил-КоА-карбоксилаза. Фосфорилирование ацетил-КоА-карбоксилазы ингибирует синтез малонил-КоА [42], а поскольку малонил-КоА является ингибитором CPT1a, это подавляет синтез жирных кислот и вместо этого способствует их окислению. АМПК может также предотвращать активацию mTORC1 [41]. Это регулирование mTORC1 АМПК может иметь решающее значение для баланса этих взаимоисключающих путей [48]. АМПК стимулирует процессы аутофагии [49]. Аутофагия и лизосомальная деградация цитоплазматического материала необходимы как для контроля качества клеток, так и как внутриклеточный источник нутриентов. Стимуляция Т-лимфоцитов приводит к транзиторной активации аутофагии, которая необходима для выживаемости и активации Т-лимфоцитов, и

АМРК может способствовать этому ответу [50].

Подобно избирательной регуляции метаболизма в регуляторных и эффекторных Т-лимфоцитах, осуществляемой mTOR и АМРК, индуцируемый гипоксией фактор-1 α (HIF-1 α) является важным транскрипционным медиатором избирательной регуляции метаболизма Т-хелперов 17. Учитывая наличие гипоксических сайтов в лимфоидной ткани, кишечнике и воспалительных очагах, этот фактор может играть важную роль в метаболизме Т-лимфоцитов. HIF-1 α способствует экспрессии всех гликолитических генов, включая ген, кодирующий Glut1. HIF-1 α избирательно экспрессируется в дифференцированных Т-хелперы-17 клетках. HIF-1 α играет ключевую роль в судьбе Т-лимфоцитов на этом этапе, поскольку дефицит HIF-1 α подавляет Т-хелперы 17 и вместо этого увеличивает количество регуляторных Т-лимфоцитов. Механизм, посредством которого HIF-1 α регулирует развитие Т-хелперов 17 и регуляторных Т-лимфоцитов, не определен, но, по-видимому, включает как метаболические, так и неметаболические пути. Метаболический путь, вероятно, включает индукцию гликолиза, что благоприятствует увеличению соотношения Т-хелперы 17/регуляторные Т-лимфоциты. Непосредственно HIF-1 α повышает транскрипционную активность фактора ROR γ t в локусе гена, кодирующего IL-17. Метаболические и сигнальные взаимодействия гипоксии и HIF-1 α могут оказывать большое влияние на Т-лимфоциты [17].

Очевидно, что регуляция и переключение метаболических путей в Т-лимфоцитах связаны с процессами пролиферации и дифференцировки, которые контролируются транскрипционными и посттранскрипционными механизмами, и определяют как метаболизм, так и функцию / дифференцировку Т-лимфоцитов. Кроме того, метаболический статус организма в целом (обеспеченность нутриентами, стресс) может влиять на метаболизм лимфоцитов, изменяя их функциональную активность. Изучение влияния метаболической регуляции, роли микроокружения, обеспеченности субстратами на функциональную активность Т-лимфоцитов способствует раскрытию новых подходов к терапии патологии иммунной системы. Выявление возможных мишеней в метаболических программах может дать новые терапевтические возможности для модуляции иммунного ответа в условиях иммуносупрессии или воспаления.

Литература

1. Glucose transporter 1 expression identifies a population of cycling CD4⁺ CD8⁺ human thymocytes with high CXCR4-induced chemotaxis / L. Swainson [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 2005 Sep. – Vol. 102, N 36. – P. 12867–12872.
2. Warburg, O. Metabolism of leukocytes / O. Warburg, K. Gawehn, A. W. Geissler // *Z. Naturforsch. B.* – 1958 Aug. – Vol. 13B, N 8. – P. 515–516.
3. Fox, C. J. Fuel feeds function: energy metabolism and the T-cell response / C. J. Fox, P. S. Hammerman, C. B. Thompson // *Nat. Rev. Immunol.* – 2005 Nov. – Vol. 5, N 11. – P. 844–852.
4. In vitro evidence that cytokine receptor signals are required for differentiation of double positive thymocytes into functionally mature CD8⁺ T cells / Q. Yu [et al.] // *J. Exp. Med.* – 2003 Feb. – Vol. 197, N 4. – P. 475–487.
5. Activation of PI3K is indispensable for interleukin 7-mediated viability, proliferation, glucose use, and growth of T cell acute lymphoblastic leukemia cells / J. T. Barata [et al.] // *J. Exp. Med.* – 2004 Sep. – Vol. 200, N 5. – P. 659–669.
6. Jacobs, S. R. IL-7 is essential for homeostatic control of T cell metabolism in vivo / S. R. Jacobs, R. D. Michalek, J. C. Rathmell // *J. Immunol.* – 2010 Apr. – Vol. 184, N 7. – P. 3461–3469.
7. Cutting edge: Distinct glycolytic and lipid oxidative metabolic programs are essential for effector and regulatory CD4⁺ T cell subsets / R. D. Michalek [et al.] // *J. Immunol.* – 2011 Mar. – Vol. 186, N 6. – P. 3299–3303.
8. Шейбак, В. М. Метаболическая активность лимфоцитов при введении биологически активных веществ и ксенобиотиков // В. М. Шейбак, А. Ю. Павлюковец // *Иммунопатология, аллергология, инфектология.* – 2012. – № 4. – С. 37–43.
9. Vander Heiden, M. G. Understanding the Warburg effect: the metabolic requirements of cell proliferation / M. G. Vander Heiden, L. C. Cantley, C. B. Thompson // *Science.* – 2009 May. – Vol. 324, N 5930. – P. 1029–1033.
10. Bental, M. Metabolic changes in activated T cells: an NMR study of human peripheral blood lymphocytes / M. Bental, C. Deutsch // *Magn. Reson. Med.* – 1993 Mar. – Vol. 29, N 3. – P. 317–326.
11. Macintyre, A. N. Activated lymphocytes as a metabolic model for carcinogenesis / A. N. Macintyre, J. C. Rathmell // *Cancer Metab.* – 2013 Jan. – Vol. 1, N 1. – P. 5.
12. Michalek, R. D. The metabolic life and times of a T-cell / R. D. Michalek, J. C. Rathmell // *Immunol. Rev.* – 2010 Jul. – Vol. 236. – P. 190–202.
13. Jameson, S. C. Maintaining the norm: T-cell homeostasis / S. C. Jameson // *Nat. Rev. Immunol.* – 2002 Aug. – Vol. 2, N 8. – P. 547–556.
14. Glucose uptake is limiting in T cell activation and requires CD28-mediated Akt-dependent and independent pathways / S. R. Jacobs [et al.] // *J. Immunol.* – 2008 Apr. – Vol. 180, N 7. – P. 4476–4486.
15. Anergic T cells are metabolically anergic / Y. Zheng [et al.] // *J. Immunol.* – 2009 Nov. – Vol. 183, N 10. – P. 6095–6101.
16. A role for mammalian target of rapamycin in regulating T cell activation versus anergy / Y. Zheng [et al.] // *J. Immunol.* – 2007 Feb. – Vol. 178, N 4. – P. 2163–2170.
17. HIF1 α -dependent glycolytic pathway orchestrates a metabolic checkpoint for the differentiation of TH17 and Treg cells / L. Z. Shi [et al.] // *J. Exp. Med.* – 2011 Jul. – Vol. 208, N 7. – P.

- 1367–1376.
18. Infectious tolerance via the consumption of essential amino acids and mTOR signaling / S. P. Cobbold [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 2009 Jul. – Vol. 106, N 29. – P. 12055–12060.
19. Characterization of the metabolic phenotype of rapamycin-treated CD8⁺ T cells with augmented ability to generate long-lasting memory cells / S. He [et al.] // *PLoS ONE.* – 2011 – Vol. 6, N 5. – P. e20107.
20. Mitochondrial respiratory capacity is a critical regulator of CD8⁺ T cell memory development / G. J. van der Windt [et al.] // *Immunity.* – 2012 Jan. – Vol. 36, N 1. – P. 68–78.
21. Gerriets, V. A. Metabolic pathways in T cell fate and function / V. A. Gerriets, J. C. Rathmell // *Trends Immunol.* – 2012 Apr. – Vol. 33, N 4. – P. 168–173.
22. Ciofani, M. Notch promotes survival of pre-T cells at the β -selection checkpoint by regulating cellular metabolism / M. Ciofani, J. C. Zuniga-Pflucker // *Nat. Immunol.* – 2005 Sep. – Vol. 6, N 9. – P. 881–888.
23. In the absence of extrinsic signals, nutrient utilization by lymphocytes is insufficient to maintain either cell size or viability / J. C. Rathmell [et al.] // *Mol. Cell.* – 2000 Sep. – Vol. 6, N 3. – P. 683–692.
24. Pearson, C. Exogenous amino acids are essential for interleukin-7 induced CD8 T cell growth / C. Pearson, A. Silva, B. Seddon // *PLoS ONE.* – 2012. – Vol. 7, N 4. – P. e33998.
25. IL-7 promotes Glut1 trafficking and glucose uptake via STAT5-mediated activation of Akt to support T cell survival / J. A. Wofford [et al.] // *Blood.* – 2008 Feb. – Vol. 111, N 4. – P. 2101–2111.
26. Dang, C. V. MYC-induced cancer cell energy metabolism and therapeutic opportunities / C. V. Dang, A. Le, P. Gao // *Clin. Cancer Res.* – 2009 Nov. – Vol. 15, N 21. – P. 6479–6483.
27. c-Myc suppression of miR-23a/b enhances mitochondrial glutaminase expression and glutamine metabolism / P. Gao [et al.] // *Nature.* – 2009 Apr. – Vol. 458, N 7239. – P. 762–765.
28. The transcription factor Myc controls metabolic reprogramming upon T lymphocyte activation / R. Wang [et al.] // *Immunity.* – 2011 Dec. – Vol. 35, N 6. – P. 871–882.
29. Anaphase-promoting complex/cyclosome-Cdh1 coordinates glycolysis and glutaminolysis with transition to S phase in human T lymphocytes / S. L. Colombo [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 2010 Nov. – Vol. 107, N 44. – P. 18868–18873.
30. LXR signaling couples sterol metabolism to proliferation in the acquired immune response / S. J. Bensinger [et al.] // *Cell.* – 2008 Jul. – Vol. 134, N 1. – P. 97–111.
31. Edinger, A. L. Controlling cell growth and survival through regulated nutrient transporter expression / A. L. Edinger // *Biochem. J.* – 2007 Aug. – Vol. 406, N 1. – P. 1–12.
32. Akt substrate TBC1D1 regulates GLUT1 expression through the mTOR pathway in 3T3-L1 adipocytes / Q. L. Zhou [et al.] // *Biochem. J.* – 2008 May. – Vol. 411, N 3. – P. 647–655.
33. Wieman, H. L. Cytokine stimulation promotes glucose uptake via phosphatidylinositol-3 kinase/Akt regulation of Glut1 activity and trafficking / H. L. Wieman, J. A. Wofford, J. C. Rathmell // *Mol. Biol. Cell.* – 2007 Apr. – Vol. 18, N 4. – P. 1437–1446.
34. An essential role for the Glut1 PDZ-binding motif in growth factor regulation of Glut1 degradation and trafficking / H. L. Wieman [et al.] // *Biochem. J.* – 2009 Mar. – Vol. 418, N 2. – P. 345–367.
35. Miyamoto, S. Akt mediates mitochondrial protection in cardiomyocytes through phosphorylation of mitochondrial hexokinase-II / S. Miyamoto, A. N. Murphy, J. H. Brown // *Cell. Death Differ.* – 2008 Mar. – Vol. 15, N 3. – P. 521–529.
36. John, S. Subcellular localization of hexokinases I and II directs the metabolic fate of glucose / S. John, J. N. Weiss, B. Ribalet // *PLoS ONE.* – 2011 Mar. – Vol. 6, N 3. – P. e17674.
37. Chi, H. Regulation and function of mTOR signalling in T cell fate decisions / H. Chi // *Nat. Rev. Immunol.* – 2012 Apr. – Vol. 12, N 5. – P. 325–338.
38. Requirement for ribosomal protein S6 kinase 1 to mediate glycolysis and apoptosis resistance induced by Pten deficiency / P. Tandon [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 2011 Feb. – Vol. 108, N 6. – P. 2361–2365.
39. SREBP activity is regulated by mTORC1 and contributes to Akt-dependent cell growth / T. Porstmann [et al.] // *Cell. Metab.* – 2008 Sep. – Vol. 8, N 3. – P. 224–236.
40. Deberardinis, R. J. Phosphatidylinositol 3-kinase-dependent modulation of carnitine palmitoyltransferase 1A expression regulates lipid metabolism during hematopoietic cell growth / R. J. Deberardinis, J. J. Lum, C. B. Thompson // *J. Biol. Chem.* – 2006 Dec. – Vol. 281, N 49. – P. 37372–37380.
41. Powell, J. D. The mammalian target of rapamycin: linking T cell differentiation, function, and metabolism / J. D. Powell, G. M. Delgoffe // *Immunity.* – 2010 Sep. – Vol. 33, N 3. – P. 301–311.
42. Hardie, D. G. AMP-activated/SNF1 protein kinases: conserved guardians of cellular energy / D. G. Hardie // *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* – 2007 Oct. – Vol. 8, N 10. – P. 774–785.
43. Regulation of the energy sensor AMP-activated protein kinase by antigen receptor and Ca²⁺ in T lymphocytes / P. Tamas [et al.] // *J. Exp. Med.* – 2006 Jul. – Vol. 203, N 7. – P. 1665–1670.
44. Peutz-Jeghers syndrome is caused by mutations in a novel serine threonine kinase / D. E. Jenne [et al.] // *Nat. Genet.* – 1998 Jan. – Vol. 18, N 1. – P. 38–43.
45. The tumor suppressor LKB1 kinase directly activates AMP-activated kinase and regulates apoptosis in response to energy stress / R. J. Shaw [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 2004 Mar. – Vol. 101, N 10. – P. 3329–3335.
46. The serine/threonine kinase LKB1 controls thymocyte survival through regulation of AMPK activation and Bcl-XL expression / Y. Cao [et al.] // *Cell. Res.* – 2010 Jan. – Vol. 20, N 1. – P. 99–108.
47. LKB1 is essential for the proliferation of T-cell progenitors and mature peripheral T cells / P. Tamás [et al.] // *Eur. J. Immunol.* – 2010 Jan. – Vol. 40, N 1. – P. 242–253.
48. The liver kinase B1 is a central regulator of T cell development, activation, and metabolism / N. J. MacIver [et al.] // *J. Immunol.* – 2011 Oct. – Vol. 187, N 8. – P. 4187–4198.
49. Role of AMPK-mTOR-Ulk1/2 in the regulation of autophagy: cross talk, shortcuts, and feedbacks / S. Alers [et al.] // *Mol. Cell. Biol.* – 2012 Jan. – Vol. 32, N 1. – P. 2–11.
50. Macroautophagy regulates energy metabolism during effector T cell activation / V. M. Hubbard [et al.] // *J. Immunol.* – 2010 Dec. – Vol. 185, N 15. – P. 7349–7357.

Поступила 06.03.2018 г.
Принята в печать 29.11.2018 г.

References

- Swainson L, Kinet S, Manel N, Battini JL, Sitbon M, Taylor N. Glucose transporter 1 expression identifies a population of cycling CD4⁺ CD8⁺ human thymocytes with high CXCR4-induced chemotaxis. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2005 Sep;102(36):12867-72. doi: 10.1073/pnas.0503603102
- Warburg O, Gawehn K, Geissler AW. Metabolism of leukocytes. *Z Naturforsch B*. 1958 Aug;13B(8):515-6.
- Fox CJ, Hammerman PS, Thompson CB. Fuel feeds function: energy metabolism and the T-cell response. *Nat Rev Immunol*. 2005 Nov;5(11):844-52. doi: 10.1038/nri1710
- Yu Q, Erman B, Bhandoola A, Sharrow SO, Singer A. In vitro evidence that cytokine receptor signals are required for differentiation of double positive thymocytes into functionally mature CD8⁺ T cells. *J Exp Med*. 2003 Feb;197(4):475-87.
- Barata JT, Silva A, Brandao JG, Nadler LM, Cardoso AA, Boussiotis VA. Activation of PI3K is indispensable for interleukin 7-mediated viability, proliferation, glucose use, and growth of T cell acute lymphoblastic leukemia cells. *J Exp Med*. 2004 Sep;200(5):659-69. doi: 10.1084/jem.20040789
- Jacobs SR, Michalek RD, Rathmell JC. IL-7 is essential for homeostatic control of T cell metabolism in vivo. *J Immunol*. 2010 Apr;184(7):3461-9. doi: 10.4049/jimmunol.0902593
- Michalek RD, Gerriets VA, Jacobs SR, Macintyre AN, MacIver NJ, Mason EF, et al. Cutting edge: Distinct glycolytic and lipid oxidative metabolic programs are essential for effector and regulatory CD4⁺ T cell subsets. *J Immunol*. 2011 Mar;186(6):3299-303. doi: 10.4049/jimmunol.1003613
- Sheybak VM, Pavlyukovets AY. Metabolic activity of lymphocytes in the administration of biologically active substances and xenobiotics. *Immunopatologiya Allergologiya Infektologiya*. 2012;(4):37-43. (In Russ.)
- Vander Heiden MG, Cantley LC, Thompson CB. Understanding the Warburg effect: the metabolic requirements of cell proliferation. *Science*. 2009 May;324(5930):1029-33. doi: 10.1126/science.1160809
- Bental M, Deutsch C. Metabolic changes in activated T cells: an NMR study of human peripheral blood lymphocytes. *Magn Reson Med*. 1993 Mar;29(3):317-26.
- Macintyre AN, Rathmell JC. Activated lymphocytes as a metabolic model for carcinogenesis. *Cancer Metab*. 2013 Jan;1(1):5. doi: 10.1186/2049-3002-1-5
- Michalek RD, Rathmell JC. The metabolic life and times of a T-cell. *Immunol Rev*. 2010 Jul;236:190-202. doi: 10.1111/j.1600-065X.2010.00911.x
- Jameson SC. Maintaining the norm: T-cell homeostasis. *Nat Rev Immunol*. 2002 Aug;2(8):547-56.
- Jacobs SR, Herman CE, Maciver NJ, Wofford JA, Wieman HL, Hammen JJ, et al. Glucose uptake is limiting in T cell activation and requires CD28-mediated Akt-dependent and independent pathways. *J Immunol*. 2008 Apr;180(7):4476-86.
- Jacobs SR, Herman CE, Maciver NJ, Wofford JA, Wieman HL, Hammen JJ, et al. Anergic T cells are metabolically anergic. *J Immunol*. 2009 Nov;183(10):6095-101. doi: 10.4049/jimmunol.0803510
- Zheng Y, Collins SL, Lutz MA, Allen AN, Kole TP, Zarek PE, et al. A role for mammalian target of rapamycin in regulating T cell activation versus anergy. *J Immunol*. 2007 Feb;178(4):2163-70.
- Shi LZ, Wang R, Huang G, Vogel P, Neale G, Green DR, et al. HIF1 α -dependent glycolytic pathway orchestrates a metabolic checkpoint for the differentiation of TH17 and Treg cells. *J Exp Med*. 2011 Jul;208(7):1367-76. doi: 10.1084/jem.20110278
- Cobbold SP, Adams E, Farquhar CA, Nolan KF, Howie D, Lui KO, et al. Infectious tolerance via the consumption of essential amino acids and mTOR signaling. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2009 Jul;106(29):12055-60. doi: 10.1073/pnas.0903919106
- He S, Kato K, Jiang J, Wahl DR, Mineishi S, Fisher EM, et al. Characterization of the metabolic phenotype of rapamycin-treated CD8⁺ T cells with augmented ability to generate long-lasting memory cells. *PLoS One*. 2011;6(5):e20107. doi: 10.1371/journal.pone.0020107
- van der Windt GJ, Everts B, Chang CH, Curtis JD, Freitas TC, Amiel E, et al. Mitochondrial respiratory capacity is a critical regulator of CD8⁺ T cell memory development. *Immunity*. 2012 Jan;36(1):68-78. doi: 10.1016/j.immuni.2011.12.007
- Gerriets VA, Rathmell JC. Metabolic pathways in T cell fate and function. *Trends Immunol*. 2012 Apr;33(4):168-73. doi: 10.1016/j.it.2012.01.010
- Ciofani M, Zuniga-Pflucker JC. Notch promotes survival of pre-T cells at the β -selection checkpoint by regulating cellular metabolism. *Nat Immunol*. 2005 Sep;6(9):881-8.
- Rathmell JC, Vander Heiden MG, Harris MH, Frauwirth KA, Thompson CB. In the absence of extrinsic signals, nutrient utilization by lymphocytes is insufficient to maintain either cell size or viability. *Mol Cell*. 2000 Sep;6(3):683-92.
- Pearson C, Silva A, Seddon B. Exogenous amino acids are essential for interleukin-7 induced CD8 T cell growth. *PLoS One*. 2012;7(4):e33998. doi: 10.1371/journal.pone.0033998
- Wofford JA, Wieman HL, Jacobs SR, Zhao Y, Rathmell JC. IL-7 promotes Glut1 trafficking and glucose uptake via STAT5-mediated activation of Akt to support T cell survival. *Blood*. 2008 Feb;111(4):2101-11.
- Dang CV, Le A, Gao P. MYC-induced cancer cell energy metabolism and therapeutic opportunities. *Clin Cancer Res*. 2009 Nov;15(21):6479-83. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-09-0889
- Gao P, Tchernyshyov I, Chang TC, Lee YS, Kita K, Ochi T, et al. c-Myc suppression of miR-23a/b enhances mitochondrial glutaminase expression and glutamine metabolism. *Nature*. 2009 Apr;458(7239):762-5. doi: 10.1038/nature07823
- Wang R, Dillon CP, Shi LZ, Milasta S, Carter R, Finkelstein D, et al. The transcription factor Myc controls metabolic reprogramming upon T lymphocyte activation. *Immunity*. 2011 Dec;35(6):871-82. doi: 10.1016/j.immuni.2011.09.021
- Colombo SL, Palacios-Callender M, Frakich N, De Leon J, Schmitt CA, Boorn L, et al. Anaphase-promoting complex/cyclosome-Cdh1 coordinates glycolysis and glutaminolysis with transition to S phase in human T lymphocytes. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2010 Nov;107(44):18868-73. doi: 10.1073/pnas.1012362107
- Bensinger SJ, Bradley MN, Joseph SB, Zelcer N, Janssen EM, Hausner MA, et al. LXR signaling couples sterol metabolism to proliferation in the acquired immune response. *Cell*. 2008 Jul;134(1):97-111. doi: 10.1016/j.cell.2008.04.052
- Edinger AL. Controlling cell growth and survival through regulated nutrient transporter expression. *Biochem J*. 2007 Aug;406(1):1-12. doi: 10.1042/BJ20070490
- Zhou QL, Jiang ZY, Holik J, Chawla A, Hagan GN, Leszyk J, et al. Akt substrate TBC1D1 regulates GLUT1 expression through the mTOR pathway in 3T3-L1 adipocytes. *Biochem J*. 2008 May;411(3):647-55. doi: 10.1042/BJ20071084

33. Wieman HL, Wofford JA, Rathmell JC. Cytokine stimulation promotes glucose uptake via phosphatidylinositol-3 kinase/Akt regulation of Glut1 activity and trafficking. *Mol Biol Cell*. 2007 Apr;18(4):1437-46.
34. Wieman HL, Horn SR, Jacobs SR, Altman BJ, Kornbluth S, Rathmell JC. An essential role for the Glut1 PDZ-binding motif in growth factor regulation of Glut1 degradation and trafficking. *Biochem J*. 2009 Mar;418(2):345-67. doi: 10.1042/BJ20081422
35. Miyamoto S, Murphy AN, Brown JH. Akt mediates mitochondrial protection in cardiomyocytes through phosphorylation of mitochondrial hexokinase-II. *Cell Death Differ*. 2008 Mar;15(3):521-9.
36. John S, Weiss JN, Ribalet B. Subcellular localization of hexokinases I and II directs the metabolic fate of glucose. *PLoS One*. 2011 Mar;6(3):e17674. doi: 10.1371/journal.pone.0017674
37. Chi H. Regulation and function of mTOR signalling in T cell fate decisions. *Nat Rev Immunol*. 2012 Apr; 12(5):325-38.
38. Tandon P, Gallo CA, Khatri S, Barger JF, Yepiskoposyan H, Plas DR. Requirement for ribosomal protein S6 kinase 1 to mediate glycolysis and apoptosis resistance induced by Pten deficiency. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2011 Feb;108(6):2361-5. doi: 10.1073/pnas.1013629108
39. Porstmann T, Santos CR, Griffiths B, Cully M, Wu M, Leevers S, et al. SREBP activity is regulated by mTORC1 and contributes to Akt-dependent cell growth. *Cell Metab*. 2008 Sep;8(3):224-36. doi: 10.1016/j.cmet.2008.07.007
40. Deberardinis RJ, Lum JJ, Thompson CB. Phosphatidylinositol 3-kinase-dependent modulation of carnitine palmitoyltransferase 1A expression regulates lipid metabolism during hematopoietic cell growth. *J Biol Chem*. 2006 Dec;281(49):37372-80. doi: 10.1074/jbc.M608372200
41. Powell JD, Delgoffe GM. The mammalian target of rapamycin: linking T cell differentiation, function, and metabolism. *Immunity*. 2010 Sep;33(3):301-11. doi: 10.1016/j.immuni.2010.09.002
42. Hardie DG. AMP-activated/SNF1 protein kinases: conserved guardians of cellular energy. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2007 Oct;8(10):774-85. doi: 10.1038/nrm2249
43. Tamás P, Hawley SA, Clarke RG, Mustard KJ, Green K, Hardie DG, et al. Regulation of the energy sensor AMP-activated protein kinase by antigen receptor and Ca²⁺ in T lymphocytes. *J Exp Med*. 2006 Jul;203(7):1665-70. doi: 10.1084/jem.20052469
44. Jenne DE, Reimann H, Nezu J, Friedel W, Loff S, Jeschke R, et al. Peutz-Jeghers syndrome is caused by mutations in a novel serine threonine kinase. *Nat Genet*. 1998 Jan;18(1):38-43. doi: 10.1038/ng0198-38
45. Shaw RJ, Kosmatka M, Bardeesy N, Hurley RL, Witters LA, DePinho RA, et al. The tumor suppressor LKB1 kinase directly activates AMP-activated kinase and regulates apoptosis in response to energy stress. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2004 Mar;101(10):3329-35.
46. Cao Y, Li H, Liu H, Zheng C, Ji H, Liu X. The serine/threonine kinase LKB1 controls thymocyte survival through regulation of AMPK activation and Bcl-XL expression. *Cell Res*. 2010 Jan;20(1):99-108. doi: 10.1038/cr.2009.141
47. Tamás P, Macintyre A, Finlay D, Clarke R, Feijoo-Camero C, Ashworth A, et al. LKB1 is essential for the proliferation of T-cell progenitors and mature peripheral T cells. *Eur J Immunol*. 2010 Jan;40(1):242-53. doi: 10.1002/eji.200939677
48. MacIver NJ, Blagih J, Saucillo DC, Tonelli L, Griss T, Rathmell JC, et al. The liver kinase B1 is a central regulator of T cell development, activation, and metabolism. *J Immunol*. 2011 Oct;187(8):4187-98. doi: 10.4049/jimmunol.1100367
49. Alers S, Löffler AS, Wesselborg S, Stork B. Role of AMPK-mTOR-Ulk1/2 in the regulation of autophagy: cross talk, shortcuts, and feedbacks. *Mol Cell Biol*. 2012 Jan;32(1):2-11. doi: 10.1128/MCB.06159-11
50. Hubbard VM, Valdor R, Patel B, Singh R, Cuervo AM, Macian F. Macroautophagy regulates energy metabolism during effector T cell activation. *J Immunol*. 2010 Dec;185(12):7349-57. doi: 10.4049/jimmunol.1000576

Submitted 06.03.2018

Accepted 29.11.2018

Сведения об авторах:

Шейбак В.М. – д.м.н., профессор кафедры биологической химии, Гродненский государственный медицинский университет;

Павлюковец А.Ю. – к.б.н., доцент кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии им. С.И. Гельберга, Гродненский государственный медицинский университет.

Information about authors:

Sheibak V.M. – Doctor of Medical Sciences, professor of the Chair of Biologic Chemistry, Grodno State Medical University; Pauliukavets A.Y. – Candidate of Biological Sciences, associate professor of the Chair of Microbiology, Virology and Immunology named after S.I. Gelberg, Grodno State Medical University.

Адрес для корреспонденции: Республика Беларусь, 230009, г. Гродно, ул. Горького, 80, Гродненский государственный медицинский университет, кафедра микробиологии, вирусологии и иммунологии им. С.И. Гельберга. E-mail: anastasiayk@mail.ru – Павлюковец Анастасия Юрьевна.

Correspondence address: Republic of Belarus, 230009, Grodno, 80, Gorky str., Grodno State Medical University, Chair of Microbiology, Virology and Immunology named after S.I. Gelberg. E-mail: anastasiayk@mail.ru – Anastasiya Y. Pauliukavets.

СИНДРОМ ИШЕМИИ-РЕПЕРФУЗИИ НИЖНИХ КОНЕЧНОСТЕЙ

НЕБЫЛИЦИН Ю.С.¹, ЛАЗУКО С.С.², КУТЬКО Е.А.²

¹Клиника Витебского государственного медицинского университета, г. Витебск, Республика Беларусь

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

Вестник ВГМУ. – 2018. – Том 17, №6. – С. 18-31.

ISCHEMIA-REPERFUSION SYNDROME OF LOWER LIMBS

NEBYLITSIN Y.S.¹, LAZUKO S.S.², KUT'KO E.A.²

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

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

Vestnik VGMU. 2018;17(6):18-31.

Резюме.

Термин «синдром ишемии-реперфузии» отражает совокупность патологических процессов, развивающихся при остром нарушении артериального кровообращения в нижней конечности с последующим его восстановлением. В данном синдроме можно выделить две разные по механизму развития, но в то же время взаимосвязанные друг с другом фазы – ишемии и реперфузии.

В фазу ишемии начинается повреждение тканей в связи с развивающимся дефицитом кислорода и нарушением синтеза высокоэнергетических субстратов клетки. В результате гипоксии запускается каскад патологических реакций, которые приводят к нарушению функции жизненно важных структур клетки. В исследованиях показано, что необратимые изменения в мышцах конечности начинаются после 3 часов полной ишемии и практически полностью завершаются к 6 часам.

Фаза реперфузии начинается сразу же после восстановления кровотока в нижней конечности, в случае необратимых повреждений тканей. В данную фазу происходит усугубление повреждения конечности, причем выраженность повреждения тем больше, чем дольше продолжалась фаза ишемии. Основными повреждающими факторами в эту фазу являются активные формы кислорода и азота (АФК и АФА) и лейкоциты. АФК и АФА ведут к развитию «окислительно-нитрозилирующего стресса», что приводит к запуску путей гибели клетки – апоптозу и некроптозу.

Важными аспектами патогенеза синдрома ишемии-реперфузии являются процесс деградации эндотелиального гликокаликса и развивающаяся дисфункция эндотелия. В разных отделах микроциркуляторного русла преобладает нарушение определенной функции эндотелия: в артериолах – нарушение регуляции сосудистого тонуса, в посткапиллярных венулах – нарушение барьерной функции и контроля адгезии лейкоцитов. Выраженность дисфункции эндотелия можно лабораторно оценить с помощью «маркеров дисфункции эндотелия», выявление которых очень важно для характеристики степени тяжести развивающейся дисфункции эндотелия и возможного поиска терапевтических целей для профилактики ее развития.

Ключевые слова: ишемия, реперфузия, воспаление, микроциркуляция.

Abstract.

A block of pathologic processes, developing in the lower limbs in case of acute disturbance of the arterial blood flow with its subsequent recovery refers to the term «ischemia-reperfusion syndrome». This syndrome can be divided into two phases, different in pathogenesis, but at the same time interconnected with each other – ischemia and reperfusion.

In ischemia phase tissue damage begins due to the developing oxygen deficit and the disturbance of high-energy cell substrates synthesis. Because of hypoxia the cascade of pathologic reactions is triggered, which lead to function disturbance of vitally important cell structures. The researches show, that irreversible changes in lower limb muscles start after 3 hours of absolute ischemia and almost completely finish by 6 hours.

Reperfusion phase starts immediately after the recovery of lower limb blood flow in case of irreversible tissue damages.

In this phase the aggravation of limb damage occurs, its severity being greater when the ischemia phase lasts for a longer period of time. The main damaging factors in this phase are reactive oxygen and nitrogen forms (ROF and RNF) and leukocytes. ROF and RNF lead to «oxidative-nitrosative stress» development which results in the triggering of cell death pathways – apoptosis and necrosis.

The process of endothelial glycocalyx degradation and the developing endothelial dysfunction are important aspects of the ischemia-reperfusion syndrome pathogenesis. In different parts of the microvascular beds the disorder of the certain endothelial function dominates: the vascular tone regulation disorder in the arterioles, disorder of the barrier function and leukocyte adhesion control in postcapillary venules. The degree of endothelial dysfunction can be evaluated in the laboratory with the help of «endothelial dysfunction markers», the identification of which is very important for describing the severity of the developing endothelial dysfunction and possible searching for therapeutic targets for the prevention of its development.

Key words: ischemia, reperfusion, inflammation, microcirculation.

Ишемические повреждения нижних конечностей являются одной из самых актуальных проблем сосудистой хирургии. Неблагоприятные результаты лечения острой артериальной недостаточности связаны, в том числе, и с развитием синдрома ишемии-реперфузии, что обусловлено местным и общим неблагоприятным влиянием этого синдрома на организм [1]. Все это диктует необходимость проведения исследований, направленных на выявление более тонких селективных механизмов развития данной патологии, что может позволить разработать критерии прогнозирования течения заболевания, методы лечения и профилактики.

История изучения синдрома ишемии-реперфузии и изменения терминологии данного понятия

На данный момент в литературе нет единого мнения в терминологической трактовке патологических процессов, развивающихся в нижней конечности при острой ишемии и ее последующей реваскуляризации. В современной литературе чаще всего используется несколько терминов: «реперфузионный синдром», «реперфузионно-реоксигенационный синдром» и «синдром ишемии-реперфузии» [2, 3]. Наиболее точно суть процессов отражает термин «синдром ишемии-реперфузии». Сам синдром состоит из двух фаз: ишемической и реперфузионной. Ишемическая фаза включает в себя совокупность повреждений тканей конечности при возникновении ишемии. Реперфузионная фаза развивается после восстановления кровотока в тканях с уже произошедшими необратимыми повреждениями клеток. Однако, несмотря на спасение конечности от ишемии, повреждение мягких тканей нижней конечности усугубляется.

Вероятно, отправной точкой в истории синдрома ишемии-реперфузии можно считать ишемическую контрактуру Фолькмана, описанную им в 1881 г. как первое клиническое подтверждение осложнения, связанного с ишемическим повреждением мышц. В дальнейшем, на протяжении многих лет появлялось большое количество публикаций, в которых авторы описывали клинические проявления данного синдрома. В 1923 г. в своей работе, посвященной связи шока и токсических факторов, Cannon W.B. описал системные эффекты восстановления кровотока в ишемизированной ткани и тем самым создал основу для характеристики осложнений, связанных с реперфузией. В 1937 г. Husbeldt E. и Bjerling T. описали повреждение почек как результат травматического шока после автокатастроф. В 1944 г. Bywaters E. опубликовал крупный клинический опыт развития почечной недостаточности после сдавления конечностей при бомбардировках Лондона во время Второй мировой войны и, таким образом обозначил актуальность проблемы реперфузии конечностей. В это же время в СССР в 1954 г. Хенкин В.Л. писал, что после восстановления кровообращения в ишемизированной конечности происходит высвобождение токсических веществ, образовавшихся в фазу ишемии, и развитие вторичного токсического шока. Однако именно Naimovici H. в 1960 г. документально отразил риск восстановления кровотока в ишемизированной конечности, описав случаи развития острой почечной недостаточности после артериальной реваскуляризации, вследствие поступления миоглобина в общий кровоток из-за обширного некроза мышц. В 1965 г. Stewart J. и соавт. описали развитие гиперкалиемии вследствие развития декомпенсированного метаболического ацидоза у пациента после эмболэктомии из подвздошной артерии. В 1969 г. Stallone R.J.

и соавт. сообщили, что у пациентов с параличом и мраморным рисунком кожи нижней конечности причиной летальности в 85% случаях была именно сердечно-легочная, а не острая почечная недостаточность. В этом же году в России Корнилов В.А. описал случай развития тяжелой пневмонии, приведшей к летальному исходу, после восстановления кровотока в подколенной артерии.

Параллельно с этими сообщениями многие исследователи в своих экспериментах старались объяснить патофизиологические аспекты синдрома ишемии-реперфузии, причем первые работы были выполнены на экспериментальных моделях миокарда лабораторных животных. Впервые концепция реперфузионного повреждения начала зарождаться после работы Tennant R. и Wiggers C. в 1935 г., в которой они отметили возникновение фибрилляции желудочков при экспериментальном инфаркте миокарда с последующим восстановлением кровотока в окклюзированных коронарных артериях. Однако только в 1960 г. Jennings R.B. и соавт. в экспериментах на сердце собаки заключили, что реперфузия «ускоряет» прогрессирование постишемического повреждения. В 1966 г. Krug A. первым описал феномен «no-reflow» на модели инфаркта миокарда у кошек, однако же более точное определение было дано Ames A. в 1968 г. Стоит отметить, что еще в 1922 г. Brooks B., не зная о феномене «no-reflow», обнаружил и описал его патологические изменения: после длительного периода артериальной окклюзии он наблюдал зоны локального нарушения перфузии после восстановления кровотока, несмотря на сохранение хорошей пульсации сосудов [4]. Таким образом, в конце 1960-х г. – начале 1970 г. в литературе начало появляться большое количество работ (Shen A.C. (1972), Hearse D. (1973), Ganote C.E. (1976), Ku D.D. (1982), Murry C.E. (1986), Griffiths E.J. (1995), Yellon D.M. (1999) и многих других авторов [5, 6]), в которых постепенно раскрывались механизмы развития синдрома ишемии-реперфузии. Однако в иностранной литературе данный синдром назывался по-разному: «reperfusion damage», «reperfusion injury» (реперфузионное повреждение), «postischemic injury» (постишемическое повреждение), «мионефротический-метаболический синдром» (Haimovici H., 1979 г.) и только ближе к середине 1980-х г. начал появляться термин «ischemia-reperfusion injury» («синдром ишемии-реперфузии»). Таким образом, исследователи объединили процессы, происходящие в фазу ишемии и реперфузии, в

два взаимосвязанных, следующих друг за другом процесса. Огромный вклад в изучение данного вопроса внесла Биленко М.В., которая в 1989 г. выпустила свою монографию «Ишемические и реперфузионные повреждения органов», в которой очень подробно описала молекулярные патофизиологические механизмы повреждения органов при ишемии и их последующей реперфузии. В 1997 г. Menger M.D. и соавт. описали механизм развития феномена «no-reflow» в поперечнополосатой мышце при данном синдроме, указывая на ключевую роль дисфункции капилляров в механизмах развития данного феномена [6].

Патофизиология синдрома ишемии-реперфузии

Патофизиология фазы ишемии

Патофизиология синдрома ишемии-реперфузии складывается из совокупности патологических процессов, происходящих в ишемическую и реперфузионную фазы, которые неотъемлемо связаны между собой.

При внезапном нарушении артериального кровообращения нижней конечности наступает острая ишемия, в результате чего возникает повреждение тканей нижней конечности. В основе механизма повреждения лежит циркуляторная гипоксия, приводящая к истощению запасов кислорода и высокоэнергетических субстратов клетки, таких как аденозинтрифосфат (АТФ) и креатинфосфат (КФ). Необходимо подчеркнуть, что устойчивость мышечной ткани к ишемии зависит не только от ее метаболических потребностей, но еще и от типа мышечных волокон. В своем составе большинство мышц имеют 2 типа волокон с различным метаболизмом, а, соответственно, и различной устойчивостью к ишемии (первый тип, или красные и второй тип, или белые). В нижней конечности передняя группа мышц имеет преимущественно первый тип волокон, а задняя группа – второй тип. Первый тип волокон получает энергию в основном за счет окислительного фосфорилирования, а второй тип – за счет анаэробного гликолиза. В связи с этим передняя группа мышц нижней конечности более чувствительна к ишемии, чем задняя [7]. Физиологические и анатомические исследования показывают, что необратимые изменения начинаются в мышцах конечностей после 3 часов полной ишемии и практически полностью завершаются к 6 часам [4]. На ишемизированной тонкой мышце соба-

ки Swartz W.M. и соавт. показали четкую связь между некрозом мышечных волокон и концентрацией АТФ. Они установили, что даже после 6 часов ишемии концентрация АТФ остается на уровне 20% от доишемического уровня, однако это все же приводит к полному некрозу мышцы [8]. При исследовании конечности человека было показано, что содержание КФ через 30 минут снижалось до 52%, через 60-90 минут до 40% от доишемического уровня, в то время как концентрация АТФ оставалась на исходном уровне [9]. Это можно объяснить включением механизмов поддержания парциального давления кислорода в клетке. Labbe R. и соавт. отметили, что процент погибших клеток после 3, 4 и 5 часов ишемии с последующей фазой реперфузии длительностью 48 часов составлял 2, 30 и 90% от общего объема мышцы соответственно [10]. Petrasek P.F. и соавт. также подтвердили, что степень некроза зависит от 2 факторов: времени острой ишемии и типа мышечного волокна. При этом в эксперименте они обнаружили, что дистально расположенные мышцы имели менее выраженные повреждения по сравнению с проксимально расположенными, так как они быстрее охлаждались, что позволило сделать вывод о том, что быстрое охлаждение играет защитную роль в сохранении конечности [11].

Из-за снижения парциального давления кислорода в крови в клетках происходит нарушение окислительного фосфорилирования в митохондриях и тем самым переключение энергетически-выгодного аэробного гликолиза клетки на анаэробный. При этом происходит метаболизм гликогена до лактата с образованием недостаточного количества АТФ, что приводит к нарушению работы АТФ-зависимых ионных каналов мембраны клетки. Наиболее важным из них является Na^+/K^+ -АТФаза, при нарушении работы которой происходит накопление ионов Na^+ внутри клетки и вымывание ионов K^+ из клетки. В то же время, происходит накопление H^+ в клетке и развитие внутриклеточного ацидоза, из-за чего в работу включается Na^+/H^+ -антипортер, который приводит к еще большему увеличению внутриклеточной концентрации ионов Na^+ . В свою очередь, высокая концентрация ионов Na^+ блокирует работу $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ -антипортера, а, возможно, и заставляет его работать в обратном направлении, что приводит к повышению концентрации ионов Ca^{2+} внутри клетки. В связи с низким потенциалом сарколеммы ионы Ca^{2+} также поступают внутрь через потенциал-зависимые Ca^{2+} -каналы

L-типа. Также было отмечено, что при прогрессировании ишемии вначале происходит повышение пассивной проницаемости сарколеммы для ионов Ca^{2+} и только затем нарушение работы Ca^{2+} -АТФазы саркоплазматического ретикулума [12]. В попытке уменьшить цитоплазматическую концентрацию ионов Ca^{2+} начинает работать Ca^{2+} -унипортер в мембране митохондрий, что приводит к повышению уровня ионов Ca^{2+} в матриксе митохондрий [13]. Увеличение цитоплазматической и внутримитохондриальной концентрации ионов Ca^{2+} является одним из самых важных механизмов ишемического повреждения клетки. Вследствие этого происходят активация фосфолипазы A_2 с последующим разрушением липидов мембраны и образованием фактора активации тромбоцитов, тромбоксана A_2 , семейства молекул простагландинов и лейкотриенов, активация нуклеаз, протеаз семейства кальпайнов, разрушающих белки цитоскелета, эндоплазматического ретикулума и митохондрий, каспаз, играющих роль в апоптозе и некроптозе (регулируемом некрозе) клетки, нарушение барьерной функции мембран, в том числе и внутриклеточных, а также экспрессия молекул клеточной адгезии, в первую очередь, высвобождение Р-селектина на поверхность эндотелия, увеличение образования интерлейкина- 1β (ИЛ- 1β), ИЛ-6, ИЛ-8 и других провоспалительных факторов с последующим привлечением нейтрофилов в очаг ишемии. Некоторые авторы связывают высокую концентрацию ионов Ca^{2+} в матриксе митохондрий с утратой ее главной, энергосинтезирующей, функцией [14], т.е. развивается так называемая дисфункция митохондрий. Высокая концентрация ионов Na^+ и нарушение барьерной функции мембран приводят к набуханию клетки, а также внутриклеточных органелл, таких как эндоплазматический ретикулум и митохондрии, усугубляя повреждение клетки. Вдобавок к нарушению функции ионных каналов мембраны, истощение запасов АТФ замедляет АТФ-зависимые процессы репарации поврежденных структур клетки [15]. В результате нарушения синтеза АТФ из аденозинмонофосфата (АМФ) происходит его катаболизм до инозина и в дальнейшем до гипоксантина, при метаболизме которого в фазе реперфузии происходит образование АФК под действием фермента ксантиноксидазы. Опять же, это возможно только в условиях ишемии, так как в норме гипоксантин метаболизируется до ксантина под действие фермента ксантиндегидрогеназы, который при ги-

поксии превращается в ксантиноксидазу [16]. В некоторых источниках указывается, что в мышце, подвергнутой ишемии, происходит образование АФК. В своем исследовании Wright V.P. и соавт. полагают, что АФК оказывают защитный эффект на мышцу, снижая ее сократительную способность. Имеются предположения, что АФК «защищают» мышцы от дальнейшего стрессового воздействия [17].

В механизмах повреждения мышечных клеток также необходимо отметить значение «переходной поры проницаемости мембраны митохондрий». Она представляет собой неселективный канал, располагающийся во внутренней мембране митохондрий и проницаемый для любой молекулы массой менее 1,5 кДа. В нормальных условиях пора остается закрытой. В условиях ишемии она становится готова к открытию за счет высокой концентрации ионов Ca^{2+} и неорганического фосфата в матриксе митохондрий, накопления продуктов деградации адениловых нуклеотидов и образования активных форм кислорода, однако остается закрытой за счет сниженного рН клетки [18]. Это довольно важно, поскольку открытие данной поры привело бы к быстрой гибели клетки.

Таким образом, ишемия вызывает особое состояние уязвимости клеток, приводящее к их дальнейшему повреждению после восстановления кровотока.

Патофизиология фазы реперфузии

Фаза реперфузии начинается сразу же после восстановления кровотока в зоне необратимо поврежденных тканей нижней конечности и характеризуется целой чередой событий, приводящей к дальнейшему повреждению ишемизированных тканей. Причем выраженность реперфузионного повреждения напрямую зависит от длительности фазы ишемии: чем дольше фаза ишемии, тем более выражено поражение. По сути, данный эффект является парадоксом, поскольку приток кислорода, электролитов и различных питательных веществ, так необходимых для спасения конечности, вызывает дальнейшее повреждение ее тканей. Поэтому своевременное восстановление кровотока при острой ишемии конечности является неотъемлемым этапом лечения острой ишемии конечности.

В фазу реперфузии клетки неспособны метаболизировать кислород как раньше в связи с развитием в фазу ишемии дисфункции ми-

тохондрий и замедлением процессов синтеза АТФ. В результате этого возникающий избыток кислорода метаболизируется клеткой с образованием АФК, что и лежит в основе реперфузионного повреждения. К наиболее важным относятся супероксид-анион (O_2^-), гидроксил-радикал ($\text{OH}\cdot$), перекись водорода (H_2O_2), пероксинитрит (ONOO^-) и OCl^- - HOCl (гипохлорид-гипохлоридная кислота). Существует несколько источников образования АФК. Наибольшее количество супероксид-аниона образуется в электрон-транспортной цепи митохондрий за счет взаимодействия накопленных в фазу ишемии восстановленного никотинамидадениндинуклеотида ($\text{НАД}\cdot\text{H}^+$) с цитохромом Р-450-редуктазой [19]. Еще одним источником АФК является фермент ксантиноксидаза, образующийся в фазу ишемии и содержащийся в эндотелиальных клетках. При наличии кислорода данный фермент метаболизирует гипоксантин в соли мочевой кислоты с образованием супероксид-аниона и перекиси водорода. Их дальнейшее взаимодействие в присутствии ионов Fe^{3+} (реакция Фентона) приводит к образованию гидроксил-радикалов. Пероксинитрит образуется в результате взаимодействия оксида азота и супероксид-аниона и является наиболее химически активным из всех активных форм кислорода и азота (АФА). В клетке присутствуют и другие менее значимые ферментные системы, приводящие к образованию АФК, например циклооксигеназа и пероксидаза [20]. В результате наличия свободного радикала в своем составе АФК и АФА являются чрезвычайно химически активными и вызывают окисление многих веществ в клетке с развитием окислительного и нитрозилирующего стресса [21]. Наиболее значимым является их взаимодействие с полиненасыщенными жирными кислотами клеточных мембран с развитием перекисного окисления липидов, что приводит к повреждению мембран, нарушению работы ионных каналов, увеличению проницаемости и, в конечном итоге, к гибели клеток.

В результате повреждающего действия АФК, АФА на поверхности клеток появляются клеточные белковые фрагменты и продукты окисления липидов и белков, которые распознаются Toll-like рецепторами (TLR) эндотелиоцитов и клеток иммунной системы как молекулярные фрагменты опасности (Damage-associated molecular patterns, DAMPs). Активация TLR приводит к запуску сигнальных путей, действие ко-

торых опосредовано в том числе и через ядерный фактор транскрипции κB (NF- κB) [22], который запускает выделение клеткой провоспалительных цитокинов, таких как фактор некроза опухоли α (ФНО- α), ИЛ- 1β , ИЛ-6, ИЛ-8, а также молекул межклеточной адгезии ICAM-1, VCAM-1, что вызывает воспаление и активное привлечение лейкоцитов и макрофагов в очаг реперфузии.

Важным источником повреждения в фазу реперфузии являются лейкоциты, которые в результате процесса дегрануляции выделяют большое количество ферментов, таких как протеазы, эластазы, коллагеназы, фосфатазы. Также необходимо отметить, что лейкоциты и макрофаги играют немаловажную роль в образовании АФК за счет НАДФН-оксидаз, миелопероксидаз и некоторых других ферментных систем внутри фагоцитов [23].

Таким образом, вызывая дальнейшее повреждение клетки, АФК приводят к запуску путей программируемой гибели клетки, апоптозу и некроптозу. Необходимо отметить, что данные многих авторов сводятся к тому, что при воздействии АФК гибель клеток, главным образом, осуществляется путем некроптоза, а не апоптоза (Nakagawa, 2005). Можно выделить 2 главных пути, ведущих к некроптозу клетки:

1. Первый и наиболее главный путь гибели клетки путем некроптоза осуществляется путем открытия «переходной поры проницаемости мембраны митохондрий» (ППП) [24, 25]. Как было отмечено выше, данная пора остается закрытой в связи с внутриклеточным ацидозом, однако после восстановления кровотока происходит повышение рН внутри клетки, при этом все еще сохраняется высокая концентрация ионов Ca^{2+} и неорганического фосфата, происходит избыточное образование АФК, что и приводит к открытию данной поры. Результатом этого является разобщение процессов дыхания и окислительного фосфорилирования за счет нарушения трансмембранного градиента H^+ на внутренней мембране митохондрий с последующим ингибированием синтеза АТФ и дальнейшим прогрессированием энергетического дефицита клетки. Также открытие данной поры приводит к транспорту воды внутрь митохондрий, их набуханию, повреждению, а иногда и к разрыву.

Также было отмечено, что развивающаяся дисфункция митохондрий и гиперпродукция АФК приводят к митоптозу, т.е. программируемой гибели митохондрий, которая имеет двой-

ственное значение. С одной стороны, происходит устранение неадекватно функционирующих и продуцирующих большое количество АФК митохондрий, что уменьшает окислительный стресс, с другой стороны, происходит выделение проапоптотических белков и цитохрома с из мембран митохондрий, запускающих процесс апоптоза. Существуют 2 варианта утилизации разрушенных компонентов митохондрий: путем запуска митофагии и формирования митофагосомы и путем образования митоптотических телец, которые в последующем эвакуируются во внеклеточное пространство [26].

2. Второй путь запуска некроптоза осуществляется посредством образования некросомы, которая образуется за счет активации рецепторов ФНО, связанных с доменами смерти (TRADD), действие которых опосредовано через белки, взаимодействующие с рецепторами (RIP1 и RIP3) [27].

Гибель клетки путем апоптоза осуществляется через семейство протеинов BCL-2. В данной системе выделяют проапоптотические белки, BAX и BAK, вызывающие апоптоз, и антиапоптотические белки, BCL-2 и BCL-XL, препятствующие этому. Действие АФК опосредовано через подсемейство белков BH3-only, которые запускают активацию проапоптотических факторов и увеличивают проницаемость наружной мембраны митохондрий, что приводит к высвобождению цитохрома с, в результате чего запускается АТФ-зависимый путь гибели клетки через ферментативную систему каспаз [28].

В настоящий момент ведутся многие экспериментальные работы по поиску ключевых молекулярных механизмов реперфузионного повреждения и гибели клетки, ингибирование которых будет способствовать уменьшению выраженности реперфузионного повреждения. К таким молекулам можно отнести: семейство митоген-активируемых протеинкиназ (JNLs, p38 MAPKs), δ -изоформу протеинкиназы C, кальций-кальмодулин-зависимую протеинкиназу и некоторые другие.

Таким образом, патогенез клеточного повреждения при синдроме ишемии-реперфузии имеет очень сложный характер, берущий начало в фазе ишемии и продолжающийся в фазе реперфузии. Необходимо дальнейшее изучение молекулярных механизмов патогенеза данного синдрома для разработки терапевтических целей в профилактике реперфузионного повреждения.

Роль дисфункции микроциркуляторного русла в патогенезе синдрома ишемии-реперфузии

Уже давно известно, что эндотелий, выстилающий сосуды микроциркуляторного русла, является активным «эндокринным органом», который играет ключевую роль в поддержании сосудистого гомеостаза. При синдроме ишемии-реперфузии происходит нарушение четырех его главных функций: барьерной функции; регуляции сосудистого тонуса; контроля процессов адгезии и транссосудистой миграции клеток крови, главным образом лейкоцитов, и поддержания гемостатических и реологических свойств крови, т.е. происходит развитие дисфункции эндотелия.

1. Нарушение барьерной функции

В нормальных условиях целостность эндотелиального барьера поддерживается межклеточными контактами между соседними эндотелиоцитами. Выделяют 2 главных типа контактов, регулирующих проницаемость эндотелия: плотные и адгезивные контакты, внутриклеточные домены белков которых связаны с белками цитоскелета эндотелиоцитов. Первые изменения в фазу ишемии происходят в эндотелиоцитах капилляров. При этом развиваются пальцевидные протрузии в просвет сосуда и инвагинации в цитоплазму эндотелиоцита. С прогрессированием ишемии увеличивается количество эндотелиальных пиноцитозных пузырьков, что приводит к формированию широких щелей между соседними эндотелиоцитами [12]. В фазу реперфузии происходит выделение большого количества провоспалительных медиаторов, которые индуцируют фосфорилирование белковых компонентов этих контактов, что в итоге приводит к ослаблению контактов между соседними эндотелиоцитами. Также провоспалительные медиаторы вызывают фосфорилирование киназы легких цепей миозина, которая, в свою очередь, приводит к сокращению цитоскелета [29]. Это ведет к формированию щелей между соседними эндотелиоцитами, вследствие чего еще больше увеличивается проницаемость эндотелия. В некоторых экспериментах также отмечается роль гиперпродукции АФК и адгезии лейкоцитов в увеличении проницаемости эндотелия, так как при использовании ингибиторов данных процессов происходило уменьшение экстравазации белков плазмы крови [30]. Вследствие формирования щелей между эндотелиоцитами происходит «просачи-

вание» белков плазмы крови, главным образом, альбумина, который, увеличивая онкотическое давление интерстиция, «притягивает» воду из сосудистого русла. В результате развивается отек интерстициального пространства, приводящий к сдавлению сосудов микроциркуляторного русла и уменьшению их просвета. Интересно отметить, что нарушение барьерной функции наиболее выражено в посткапиллярных венулах, тогда как в артериолах преобладает нарушение регуляции сосудистого тонуса. В капиллярах также происходит увеличение скорости фильтрации жидкости, что связывают с активацией индуцированной NO-синтазы (iNOS) [31].

Также нельзя забывать, что в фазу ишемии, а затем и в фазу реперфузии эндотелиоциты синтезируют большое количество медиаторов, часть из которых также влияет на проницаемость эндотелия. К таким химическим веществам можно отнести фактор, активирующий тромбоциты, брадикинин, гистамин, газотрансммиттеры (NO, CO, H₂S), которые также повышают сосудистую проницаемость [32].

2. Регуляция сосудистого тонуса

Регуляция величины артериального давления и потока крови осуществляется благодаря интегральному взаимодействию рефлекторного, гуморального и локального механизмов регуляции тонуса сосудов. Одним из локальных механизмов регуляции сосудистого тонуса является эндотелий-зависимая регуляция сократительной активности гладкомышечных клеток артериальных сосудов. В основе этой регуляции лежит способность эндотелиоцитов синтезировать и высвобождать большое количество разнообразных соединений, обладающих вазоактивными свойствами. В нормальных условиях эндотелий поддерживает тонус сосудистой стенки за счет баланса между синтезом вазоконстрикторных и вазодилатирующих факторов. NO, простациклин и эндотелиальный фактор гиперполяризации (EDHF) были идентифицированы как главные факторы релаксации эндотелиального происхождения.

В экспериментальных исследованиях было доказано, что при синдроме ишемии-реперфузии происходит нарушение эндотелийзависимой NO-опосредованной релаксации сосудистой стенки, при сохранении эндотелий-независимой релаксации, что доказывает развитие дисфункции эндотелия на фоне нормального функционирования гладкомышечных клеток артериол. Причем

данное нарушение связывают с гиперпродукцией АФК эндотелиоцитами и лейкоцитами, так как при использовании супероксид-дисмутазы и других антиоксидантов происходит восстановление опосредованной NO релаксации сосудистой стенки [33]. В механизме нарушения вазодилатации также лежит снижение продукции NO эндотелиальной и нейрональной изоформами NO-синтазы, присутствующими в скелетных мышцах. Нарушение синтеза NO также связано с конкурентным ингибированием NO-синтазы ферментом аргиназой, который уменьшает количество субстрата для синтеза NO. В некоторых исследованиях показана роль NO-синтазы как источника супероксид-аниона в условиях разобщения данного фермента со своим кофактором, тетрагидриобиптерином, [34], что происходит при синдроме ишемии-реперфузии.

При синдроме ишемии-реперфузии важная роль в механизмах повреждения клеток принадлежит еще одной изоформе NO-синтазы – индуцированной NO-синтазе (iNOS). При ее активации NO продуцируется в количествах, тысячекратно превышающих его нормальную продукцию, что приводит к токсическому действию NO на клетки, в том числе и через образование пероксинитрита. Zhu T. в своем исследовании показал, что индуцированная NO-синтаза также запускает процесс гибели клеток [37].

Таким образом, при синдроме ишемии-реперфузии артериолы сужены из-за преобладания выделения сосудосуживающих веществ (эндотелина-1 [38], фактора активации тромбоцитов и тромбоксана A_2) и нарушения процессов релаксации сосудистой стенки.

3. Контроль процессов адгезии и транссудистой миграции клеток крови

В патогенезе синдрома ишемии-реперфузии важное место занимает острое «стерильное» воспаление, вызываемое повреждением эндотелиоцитов и миоцитов. Данное воспаление провоцируется и поддерживается синтезом провоспалительных цитокинов как самим эндотелием, так и другими клетками, главным образом лейкоцитами, макрофагами и мастоцитами. За счет синтеза хемоаттрактантов, таких как фактор активации тромбоцитов, лейкотриен B_4 , ИЛ-8, DAMPs, анафилотоксинов C_{3a} , C_{5a} , происходит привлечение большого количества лейкоцитов к месту повреждения [39]. Необходимо отметить, что процессы повышенной адгезии и транссудистой миграции лейкоцитов осуществляются

исключительно в посткапиллярных венах [40]. Сам процесс лейкоцитарной миграции состоит из 4 этапов: краевого стояния, так называемого «роллинга» (перекачивания), адгезии и миграции [41]. Процесс миграции лейкоцитов начинается еще в фазу ишемии, однако из-за стаза данный процесс идет очень медленно. В фазу реперфузии возобновление кровотока стимулирует взаимодействие между эндотелиоцитами и лейкоцитами. «Роллинг» осуществляется за счет связывания Р-селектина на поверхности эндотелия, выделяющегося из «телец Вайбеля – Паладе», с гликопротеиновым лигандом Р-селектина-1 на поверхности лейкоцита. Однако данное взаимодействие является непрочным. Третий этап, адгезия, обеспечивает прочное прикрепление лейкоцита к эндотелиоциту и происходит за счет взаимодействия β_2 -интегрина CD11a/CD18 на поверхности лейкоцита с эндотелиальной молекулой межклеточной адгезии (ICAM-1), экспрессия которой повышается при активации ядерного фактора NF- κ B [42]. Четвертый этап, транссудистая миграция, обеспечивается за счет молекулы адгезии PECAM-1, которая располагается в области эндотелиальных контактов. После попадания активированного лейкоцита в интерстициальное пространство он начинает выделять АФК, протеазы, которые ведут к повышению сосудистой проницаемости, внеклеточному отеку, тромбозу и гибели клеток [43]. Немаловажную роль в облегченной транссудистой миграции лейкоцитов играет нарушение барьерной функции эндотелия. Таким образом, повреждение посткапиллярных венул выражено намного значительнее, чем других отделов микроциркуляторного русла именно за счет миграции активированных нейтрофилов.

4. Поддержание гемостатических и реологических свойств крови

В нормальных условиях эндотелий обладает как прокоагулянтными, так и антикоагулянтными свойствами.

При синдроме ишемии-реперфузии можно выделить несколько путей, приводящих к формированию тромбов в микроциркуляторном русле: 1) стаз крови в сосудах микроциркуляции; 2) адгезия тромбоцитов к интактному эндотелию, а также к субэндотелиальному слою за счет уменьшения толщины эндотелиального гликокаликса и формирования щелей между эндотелиоцитами; 3) активация тромбоцитов при их адгезии с выделением разнообразных гранул, содержащих

большое количество провоспалительных, про-тромбогенных и митогенных факторов, таких как фактор активации тромбоцитов, тромбоксан A_2 , простагландин E_2 , сфингозин-1-фосфат, серотонин, многочисленные факторы роста (VEGF, ECGF, PDGF, TGF- β , IGF-I) и хемокины лейкоцитов [44]; 4) изменение секретирующего фенотипа эндотелия (выделение тканевого фактора, увеличение образования ингибитора тканевого активатора плазминогена, уменьшение образования тромбомодулина и тканевого активатора плазминогена, уменьшение количества антитромбина III, нарушение сродства эндотелиального рецептора к протеину [45]). Адгезия тромбоцитов к эндотелию происходит за счет взаимодействия GPIIb и GPIIb-IIIa рецепторов ($\alpha_{IIb}\beta_3$) на поверхности тромбоцита с Р-селектином и витронектин-рецептором ($\alpha_v\beta_3$) со стороны эндотелия с участием фибриногена и фибронектина [44].

В настоящее время в патогенезе синдрома ишемии-реперфузии важная роль отводится деградации эндотелиального гликокаликса (ЭГ),

представляющего собой комплекс разнообразных молекул, связанных с люминальной поверхностью эндотелиоцита и выполняющих многочисленные функции, поддерживающие сосудистый гомеостаз (Максименко, 2014). Эндотелиальный гликокаликс состоит из протеогликанов, гликопротеинов и гиалуронана. Протеогликаны являются опорными структурами для остальных молекул ЭГ и представляют собой вытянутые белковые молекулы, с которыми ковалентно связываются гликозаминогликаны (ГАГ). Важнейшими ГАГ, входящими в состав протеогликанов, являются гепаран-сульфат (ГС), хондроитин-сульфат (ХС), соотношение которых в ЭГ составляет 4:1. Еще одним важным ГАГ является гиалуронан (ГН), связанный с гиаладгерином мембраны эндотелия и образующий гелеподобную подложку, которая стабилизирует вытянутые структуры протеогликанов. Гликопротеины представляют собой мембранные белки, к внеклеточной части которых присоединяются короткие олигосахариды, их углеводная цепь завершается сиаловыми

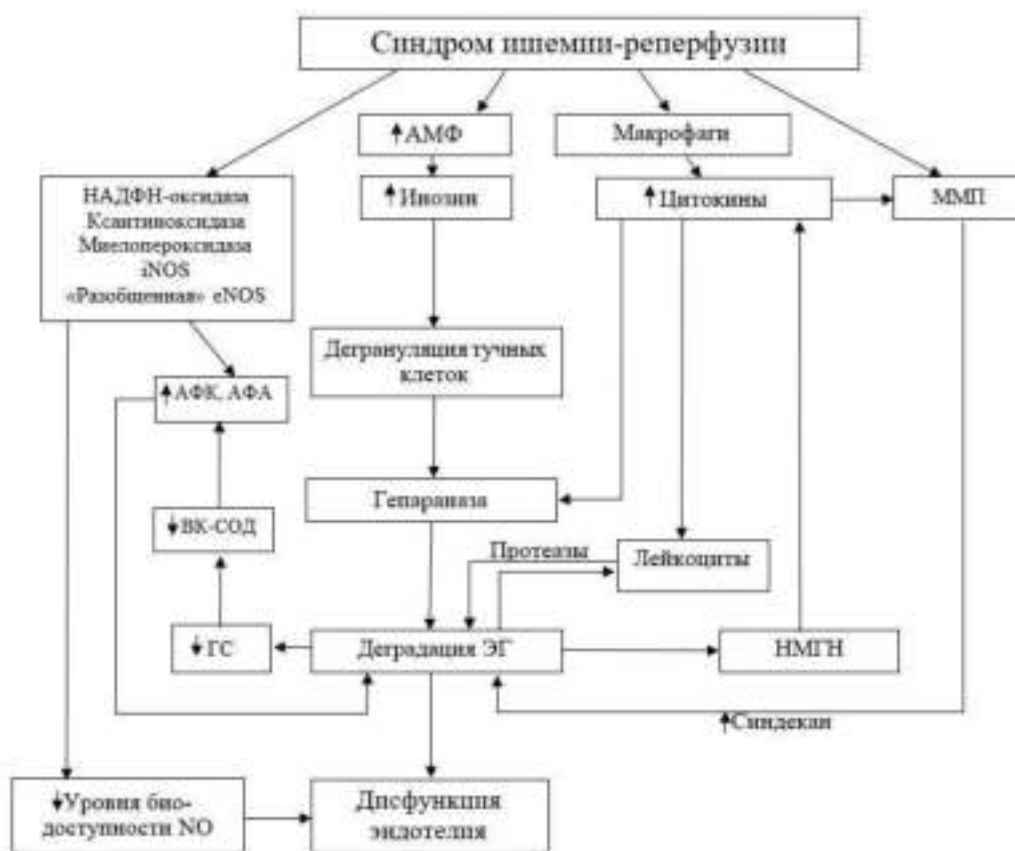


Рисунок – Упрощенный механизм повреждения эндотелиального гликокаликса при синдроме ишемии-реперфузии: АМФ – аденозинмонофосфат; АФА – активные формы азота; АФК – активные формы кислорода; БК-СОД – внеклеточная супероксиддисмутаза; ГС – гепаран-сульфат; MMP – матриксные металлопротеиназы; НМГН – низкомолекулярный гиалуронан, ЭГ – эндотелиальный гликокаликс.

Таблица – Маркеры дисфункции эндотелия

NO (нитраты, нитриты)	Тканевый активатор плазминогена
sICAM-1	Тканевый фактор
sVCAM-1	Эндотелин-1
E-, P-селектины	Гомоцистеин
Тромбомодулин	Сосудистый эндотелиальный фактор роста (VEGF)
Фактор Виллебранда	

кислотами. К важнейшим гликопротеинам относятся интегрины, селектины, тромбомодулин и гликопротеиновый макрокомплекс Ib-IX-V. Эти гликопротеины участвуют в процессах адгезии молекул к сосудистому эндотелию и являются компонентами антикоагулянтной системы эндотелия. В нормальных условиях толщина ЭГ в капиллярах приблизительно равна 500 нм, что превышает высоту молекул клеточной адгезии, и они как бы «замаскированы» от циркулирующих клеток крови, однако при синдроме ишемии-реперфузии происходит деградация ЭГ, что приводит к его истончению, экспозиции молекул клеточной адгезии и связыванию с ними лейкоцитов. Деградация ЭГ также приводит к уменьшению содержания внеклеточной супероксиддисмутазы, связанной с гепаран-сульфатом ЭГ [46]. В целом, механизм деградации ЭГ представлен на рисунке.

Из рисунка видно, что многие факторы, участвующие в деградации ЭГ, взаимно активируют друг друга, образуя «порочные круги» и усиливая процесс деградации гликокаликса. В итоге разрушение ЭГ приводит к дисфункции эндотелия.

Выраженность развивающейся при синдроме ишемии-реперфузии дисфункции эндотелия можно лабораторно оценить по изменению синтеза определенных веществ эндотелиальными клетками. Данные вещества называются «маркерами дисфункции эндотелия» (табл.) [47-50].

Также можно выделить маркеры деградации эндотелиального гликокаликса, концентрация которых многократно увеличивается при синдроме ишемии-реперфузии: синдекан-1, гепаран-сульфат (ГС), гиалуронан (ГН) [46].

Таким образом, дисфункция эндотелия микроциркуляторного русла, развивающаяся в фазу ишемии и усугубляющаяся в фазу реперфузии, ведет к развитию феномена «no-reflow», который характеризуется расстройством перфузии раннее

ишемизированных тканей на микроциркуляторном уровне при восстановленном кровотоке в магистральных сосудах. Дисфункция эндотелия играет важную роль в патогенезе синдрома ишемии-реперфузии и отражает всю многогранность процесса его развития. На основании точного понимания молекулярных и клеточных механизмов развития дисфункции эндотелия необходимо вести поиск терапевтических целей в профилактике ее развития в фазу реперфузии.

Заключение

Высокая летальность в послеоперационном периоде у пациентов с острой ишемией нижней конечности связана с развитием синдрома ишемии-реперфузии. В основе данного синдрома лежит комплекс взаимосвязанных процессов, приводящих, в итоге, к массовой гибели клеток, несмотря на восстановление кровотока. Ключевым звеном в патофизиологии синдрома ишемии-реперфузии является развивающаяся дисфункция эндотелия, важную роль в появлении которой играет процесс деградации эндотелиального гликокаликса. Выраженность данных процессов можно оценить с помощью маркеров дисфункции эндотелия и деградации эндотелиального гликокаликса. Дальнейшее изучение молекулярных основ патогенеза синдрома ишемии-реперфузии позволит раскрыть и обозначить новые терапевтические стратегии для ликвидации развивающихся патологических процессов при этом синдроме.

Литература

1. Acute limb ischemia / C. Gilliland [et al.] // Tech. Vasc. Interv. Radiol. – 2017 Dec. – Vol. 20, N 4. – P. 274–280. doi:10.1053/j.tvir.2017.10.008
2. Засимович, В. Н. Реперфузионно-реоксигенационный синдром как проблема реконструктивной хирургии ар-

- терий при хронической ишемии нижних конечностей атеросклеротического генеза / В. Н. Засимович, Н. Н. Иоскевич // *Новости хирургии.* – 2017. – Т. 25, № 6. – С. 632–642.
3. Маршалов, Д. В. Реперфузионный синдром: понятие, определение, классификация / Д. В. Маршалов, А. П. Петренко, И. А. Глушач // *Патология кровообращения и кардиохирургия.* – 2008. – № 3. – С. 67–72.
4. Blaisdell, F. W. The pathophysiology of skeletal muscle ischemia and the reperfusion syndrome: a review / F. W. Blaisdell // *Cardiovasc. Surg.* – 2002 Dec. – Vol. 10, N 6. – P. 620–630.
5. Myocardial reperfusion injury as a New Frontier for Clinical Therapy / D. J. Hausenloy [et al.] // *Management of Myocardial Reperfusion Injury* / ed.: D. J. Hausenloy [et al.]. – London : Springer; 2012. – P. 3–10.
6. Patlola, R. R. Acute Ischemic Syndromes of the Peripheral Arteries / R. R. Patlola, C. Walker // *Lanzer, P. PanVascular Medicine* / P. Lanzer. – 2nd ed. – Berlin : Springer; 2015. – P. 3073–3098.
7. The effect of ischemia/reperfusion on adenine nucleotide metabolism and xanthine oxidase production in skeletal muscle / T. F. Lindsa [et al.] // *J. Vasc. Surg.* – 1990 Jul. – Vol. 12, N 1. – P. 8–15.
8. The effect of prolonged ischemia on high energy phosphate metabolism in skeletal muscle / W. M. Swartz [et al.] // *Surg. Gynecol. Obstet.* – 1978 Dec. – Vol. 147, N 6. – P. 872–876.
9. Haljamäe, H. Human skeletal muscle energy metabolism during and after complete tourniquet ischemia / H. Haljamäe, E. Enger // *Ann. Surg.* – 1975 Jul. – Vol. 182, N 1. – P. 9–14.
10. Labbe, R. The extent and distribution of skeletal muscle necrosis after graded periods of complete ischemia / R. Labbe, T. Lindsay, P. M. Walker // *J. Vasc. Surg.* – 1987 Aug. – Vol. 6, N 2. – P. 152–157.
11. Petrasek, P. F. Determinants of ischemic injury to skeletal muscle / P. F. Petrasek, S. Homer-Vanniasinkam, P. M. Walker // *J. Vasc. Surg.* – 1994 Apr. – Vol. 19, N 4. – P. 623–631.
12. Szydlowska, K. Calcium ischemia and excitotoxicity / K. Szydlowska, M. Tymianski // *Cell. Calcium.* – 2010 Feb. – Vol. 47, N 2. – P. 122–129.
13. Mitochondria: the calcium connection / L. Contreras [et al.] // *Biochim. Biophys. Acta.* – 2010 Jun-Jul. – Vol. 1797, N 6/7. – P. 607–618.
14. Mitochondrial Dysfunction and Myocardial Ischemia-Reperfusion: Implications for Novel Therapies / E. J. Lesnefsky [et al.] // *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* – 2017 Jan. – Vol. 57. – P. 535–565.
15. Andrews, N. W. Damage Control: Cellular Mechanisms of Plasma Membrane Repair / N. W. Andrews, P. E. Almeida, M. Corrotte // *Trends Cell. Biol.* – 2014 Dec. – Vol. 24, N 12. – P. 734–742.
16. Granger, D. N. Physiology of reperfusion injury / D. N. Granger, S. Homer-Vanniasinkam // *White, R. A. Vascular Surgery: Basic Science and Clinical Correlations* / R. A. White, L. H. Hollier. – 2nd ed. – Oxford : Blackwell Publishing; 2005. – P. 245–250.
17. Superoxide scavengers augment contractile but not energetic responses to hypoxia in rat diaphragm / V. P. Wright [et al.] // *J. Appl. Physiol.* – 2005 May. – Vol. 98, N 5. – P. 1753–1760.
18. Bernardi, P. The mitochondrial permeability transition pore: molecular nature and role as a target in cardioprotection / P. Bernardi, F. Di Lisa // *J. Mol. Cell. Cardiol.* – 2015 Jan. – Vol. 78. – P. 100–106.
19. Biphasic modulation of the mitochondrial electron transport chain in myocardial ischemia and reperfusion / H. L. Lee [et al.] // *Am. J. Physiol. Heart. Circ. Physiol.* – 2012 Apr. – Vol. 302, N 7. – P. H1410–H1422.
20. Биленко, М. В. Ишемические и реперфузионные повреждения органов: (молекулярные механизмы, пути предупреждения и лечения) / М. В. Биленко. – М. : Медицина, 1989. – 368 с.
21. Oxidative and nitrosative stress during pulmonary ischemia-reperfusion injury: from the lab to the OR / J. F. Gielis [et al.] // *Ann. Trans. Med.* – 2017 Mar. – Vol. 5, N 6. – P. 131.
22. Toll-like receptors: new players in myocardial ischemia/reperfusion injury / T. Ha [et al.] // *Antioxid. Redox. Signal.* – 2011 Oct. – Vol. 15, N 7. – P. 1875–1893.
23. Granger, D. N. Reperfusion injury and reactive oxygen species: The evolution of a concept / D. N. Granger, P. R. Kvietys // *Redox. Biology.* – 2015 Dec. – Vol. 6. – P. 524–551.
24. Halestrap, A. P. A pore way to die: the role of mitochondria in reperfusion injury and cardioprotection / A. P. Halestrap // *Biochem. Soc. Trans.* – 2010 Aug. – Vol. 38, N 4. – P. 841–860.
25. Mitochondrial oxidant stress triggers cell death in simulated ischemia-reperfusion / G. Loo [et al.] // *Biochim. Biophys. Acta.* – 2011 Jul. – Vol. 1813, N 7. – P. 1382–1394.
26. Current Mechanistic Concepts in Ischemia and Reperfusion Injury / M. Y. Wu [et al.] // *Cell. Physiol. Biochem.* – 2018. – Vol. 46, N 4. – P. 1650–1667.
27. Phosphorylation-driven assembly of the RIP1-RIP3 complex regulates programmed necrosis and virus-induced inflammation / Y. S. Cho [et al.] // *Cell.* – 2009 Jun. – Vol. 137, N 6. – P. 1112–1123.
28. Regulation of mitochondrial respiration and apoptosis through cell signaling: cytochrome c oxidase and cytochrome c in ischemia/reperfusion injury and inflammation / M. Hüttemann [et al.] // *Biochim. Biophys. Acta.* – 2012 Apr. – Vol. 1817, N 4. – P. 598–609.
29. Molecular mechanisms of endothelial hyperpermeability: implications in inflammation / P. Kumar [et al.] // *Expert Rev. Mol. Med.* – 2009 Jun. – Vol. 11. – P. e19.
30. Cell biology of ischemia/reperfusion injury / T. Kalogeris [et al.] // *Int. Rev. Cell. Mol. Biol.* – 2012. – Vol. 298. – P. 229–317.
31. Evaluation of iNOS-dependent and independent mechanisms of the microvascular permeability change induced by lipopolysaccharide / E. Fujii [et al.] // *Br. J. Pharmacol.* – 2000 May. – Vol. 130, N 1. – P. 90–94.
32. Moody, B. F. Emergent role of gasotransmitters in ischemia-reperfusion injury / B. F. Moody, J. W. Calvert // *Med. Gas Res.* – 2011 Apr. – Vol. 1, N 1. – P. 3.
33. Harrison, D. G. Cellular and molecular mechanisms of endothelial cell dysfunction / D. G. Harrison // *J. Clin. Invest.* – 1997 Nov. – Vol. 100, N 9. – P. 2153–2157.
34. Molecular mechanisms of endothelial NO synthase uncoupling / S. Luo [et al.] // *Curr. Pharm. Des.* – 2014. – Vol. 20, N 22. – P. 3548–3553.
35. Parish, J. M. Obstructive sleep apnea and cardiovascular disease / J. M. Parish, V. K. Somers // *Mayo Clin. Proc.* – 2004 Aug. – Vol. 79, N 8. – P. 1036–1046.
36. Intermittent hypoxia conditioning prevents endothelial dysfunction and improves nitric oxide storage in

- spontaneously hypertensive rats / E. B. Manukhina [et al.] // *Exp. Biol. Med. (Maywood)*. – 2011 Jul. – Vol. 236, N 7. – P. 867–873.
37. iNOS Induces Vascular Endothelial Cell Migration and Apoptosis Via Autophagy in Ischemia/Reperfusion Injury / T. Zhu [et al.] // *Cell. Physiol. Biochem.* – 2016. – Vol. 38, N 4. – P. 1575–1588.
 38. Huribal, M. Role of Endothelin in Ischemia-Reperfusion Injury / M. Huribal, M. A. McMillen // *Ann. N. Y. Acad. Sci.* – 1994 Jun. – Vol. 723. – P. 484–485.
 39. Phillipson, M. The neutrophil in vascular inflammation / M. Phillipson, P. Kubes // *Nat. Med.* – 2011 Nov. – Vol. 17, N 11. – P. 1381–1390.
 40. Granger, D. N. Ischemia-reperfusion: mechanisms of microvascular dysfunction and the influence of risk factors for cardiovascular disease / D. N. Granger // *Microcirculation.* – 1999 Sep. – Vol. 6, N 3. – P. 167–178.
 41. Springer, T. A. Traffic signals for lymphocyte recirculation and leukocyte emigration: the multistep paradigm / T. A. Springer // *Cell.* – 1994 Jan. – Vol. 76, N 2. – P. 301–314.
 42. Activation of NF- κ B and Expression of ICAM-1 in Ischemic-reperfused Canine Myocardium / B. Sun [et al.] // *J. Mol. Cell. Cardiol.* – 2001 Jan. – Vol. 33, N 1. – P. 109–119.
 43. Carden, D. L. Pathophysiology of ischaemia-reperfusion injury / D. L. Carden, D. N. Granger // *J. Pathol.* – 2000 Feb. – Vol. 190, N 3. – P. 255–266.
 44. Thromboinflammatory Functions of Platelets in Ischemia-Reperfusion Injury and Its Dysregulation in Diabetes / S. Maiocchi [et al.] // *Semin. Thromb. Hemost.* – 2018 Mar. – Vol. 44, N 2. – P. 102–113.
 45. Mohan Rao, L. V. Endothelial cell protein C receptor: a multiliganded and multifunctional receptor / L. V. Mohan Rao, C. T. Esmon, U. R. Pendurthi // *Blood.* – 2014 Sep. – Vol. 124, N 10. – P. 1553–1562.
 46. Sieve, I. Regulation and function of endothelial glycocalyx layer in vascular diseases / I. Sieve, A. K. Münster-Kühnel, D. Hilfiker-Kleiner // *Vascul. Pharmacol.* – 2018 Jan. – Vol. 100. – P. 26–33.
 47. Altered Endothelin-1 Levels in Acute Lower Limb Ischemia and Reperfusion / J. C. Tsui [et al.] // *Angiology.* – 2004 Sep-Oct. – Vol. 55, N 5. – P. 533–539.
 48. Direct relationship between levels of TNF α expression and endothelial dysfunction in reperfusion injury / C. Zhang [et al.] // *Basic Res. Cardiol.* – 2010 Jul. – Vol. 105, N 4. – P. 453–464.
 49. Lindsberg, P. J. Mast Cell as an Early Responder in Ischemic Brain Injury / P. J. Lindsberg, O. S. Mattila, D. Strbian // *Non-Neuronal Mechanisms of Brain Damage and Repair After Stroke* / ed.: J. Chen, J. Zhang, X. Hu. – Switzerland: Springer; 2016. – P. 255–272.
 50. ADAMTS13 deficiency exacerbates VWF-dependent acute myocardial ischemia/reperfusion injury in mice / C. Gandhi [et al.] // *Blood.* – 2012 Dec. – Vol. 120, N 26. – P. 5224–5230.

Поступила 08.02.2018 г.

Принята в печать 29.11.2018 г.

References

1. Gilliland C, Shah J, Martin JG, Miller MJ Jr. Acute limb ischemia. *Tech Vasc Interv Radiol.* 2017 Dec;20(4):274-80. doi: 10.1053/j.tvir.2017.10.008
2. Zsimevich VN, Ioskevich NN. Reperfusion-reoxygenation syndrome as a problem of reconstructive surgery of arteries in chronic lower limb ischemia of atherosclerotic origin. *Novosti Khirurgii.* 2017;25(6):632-42. doi: 10.18484/2305-0047.2017.6.632. (In Russ.)
3. Marshalov DV, Petrenko AP, Glushach IA. Reperfusion syndrome: concept, definition, classification. *Patologiya Krovobrashcheniya Kardiokhirurgiya.* 2008;(3):67-72. (In Russ.)
4. Blaisdell FW. The pathophysiology of skeletal muscle ischemia and the reperfusion syndrome: a review. *Cardiovascular Surgery.* 2002 Dec;10(6):620-30. doi: 10.1016/S0967-2109(02)00070-4
5. Hausenloy DJ, Kaski JC, Gersh BJ, Yellon DM. Myocardial reperfusion injury as a New Frontier for Clinical Therapy. In: Hausenloy DJ, Kaski JC, Gersh BJ, Yellon DM, editors. *Management of Myocardial Reperfusion Injury.* London: Springer; 2012. P. 3-10. doi: 10.1007/978-1-84996-019-9_1
6. Patlola RR, Walker C. Acute Ischemic Syndromes of the Peripheral Arteries. In: Lanzer P. *PanVascular Medicine.* 2nd ed. Berlin Heidelberg: Springer; 2015. P. 3073-98.
7. Lindsay TF, Liauw S, Romaschin AD, Walker PM. The effect of ischemia/reperfusion on adenosine nucleotide metabolism and xanthine oxidase production in skeletal muscle. *J Vasc Surg.* 1990 Jul;12:8-15. doi: 10.1016/0741-5214(90)90360-M
8. Swartz WM, Cha CJ, Clowes GH Jr, Randall HT. The effect of prolonged ischemia on high energy phosphate metabolism in skeletal muscle. *Surg Gynecol Obstet.* 1978 Dec;147(6):872-6.
9. Haljamäe H, Enger E. Human skeletal muscle energy metabolism during and after complete tourniquet ischemia. *Ann Surg.* 1975 Jul;182(1):9-14.
10. Labbe R, Lindsay T, Walker PM. The extent and distribution of skeletal muscle necrosis after graded periods of complete ischemia. *J Vasc Surg.* 1987 Aug;6(2):152-7. doi: 10.1067/mva.1987.avs0060152
11. Petrusek PF, Homer-Vanniasinkam S, Walker PM. Determinants of ischemic injury to skeletal muscle. *J Vasc Surg.* 1994 Apr;19(4):623-31. doi: 10.1016/S0741-5214(94)70035-4
12. Szydlowska K, Tymianski M. Calcium ischemia and excitotoxicity. *Cell Calcium.* 2010 Feb;47(2):122-9. doi: 10.1016/j.ceca.2010.01.003
13. Contreras L, Drago I, Zampese E, Pozzan T. Mitochondria: the calcium connection. *Biochim Biophys Acta.* 2010 Jun-Jul;1797(6-7):607-18. doi: 10.1016/j.bbabo.2010.05.005
14. Lesnfsky EJ, Chen Q, Tandler B, Hoppel CL. Mitochondrial Dysfunction and Myocardial Ischemia-Reperfusion: Implications for Novel Therapies. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology.* 2017 Jan;57:535-65. doi: 10.1146/annurev-pharmtox-010715-103335
15. Andrews NW, Almeida PE, Corrotte M. Damage Control: Cellular Mechanisms of Plasma Membrane Repair. *Trends in Cell Biology.* 2014 Dec;24(12):734-42. doi: 10.1016/j.tcb.2014.07.008
16. Granger DN, Homer-Vanniasinkam S. Physiology of reperfusion injury. In: White RA, Hollier LH. *Vascular Surgery: Basic Science and Clinical Correlations,* 2nd Edition. Oxford: Blackwell Publishing; 2005. P. 245-50.

17. Wright VP, Klawitter PF, Iscru DF, Merola AJ, Clanton TL. Superoxide scavengers augment contractile but not energetic responses to hypoxia in rat diaphragm. *J Appl Physiol*. 2005 May;98(5):1753-60. doi: 10.1152/japplphysiol.01022.2004
18. Bernardi P, Di Lisa F. The mitochondrial permeability transition pore: Molecular nature and role as a target in cardioprotection. *J Mol Cell Cardiol*. 2015 Jan;78:100-6. doi: 10.1016/j.yjmcc.2014.09.023
19. Lee H-L, Chen C-L, Yeh ST, Zweier JL, Chen Y-R. Biphasic modulation of the mitochondrial electron transport chain in myocardial ischemia and reperfusion. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2012 Apr;302(7):H1410-22. doi: 10.1152/ajpheart.00731.2011
20. Bilenko MV. Ischemic and reperfusion injuries of organs: (molecular mechanisms, ways of prevention and treatment). Moscow, RF: Meditsina; 1989. 368 p. (In Russ.)
21. Gielis JF, Beckers PAJ, Briedé JJ, Cos P, Van Schil PE. Oxidative and nitrosative stress during pulmonary ischemia-reperfusion injury: from the lab to the OR. *Ann Transl Med*. 2017 bфк;5(6):131. doi: 10.21037/atm.2017.03.32
22. Ha T, Liu L, Kelley J, Kao R, Williams D, Li C. Toll-like receptors: new players in myocardial ischemia/reperfusion injury. *Antioxid Redox Signal*. 2011 Oct;15(7):1875-93. doi: 10.1089/ars.2010.3723
23. Granger DN, Kvietys PR. Reperfusion injury and reactive oxygen species: the evolution of a concept. *Redox Biology*. 2015 Dec;6:524-51. doi: 10.1016/j.redox.2015.08.020
24. Halestrap AP. A pore way to die: the role of mitochondria in reperfusion injury and cardioprotection. *Biochem Soc Trans*. 2010 Aug;38(4):841-60. doi: 10.1042/BST0380841
25. Loor G, Kondapalli J, Iwase H, Chandel NS, Waypa GB, Guzy RD, et al. Mitochondrial oxidant stress triggers cell death in simulated ischemia-reperfusion. *Biochim Biophys Acta*. 2011 Jul;1813(7):1382-94. doi: 10.1016/j.bbamcr.2010.12.008
26. Wu MY, Yang GT, Liao WT, Tsai AP, Cheng YL, et al. Current Mechanistic Concepts in Ischemia and Reperfusion Injury. *Cell Physiol Biochem*. 2018;46(4):1650-67. doi: 10.1159/000489241
27. Cho YS, Challa S, Moquin D, Genga R, Ray TD, Guildford M, et al. Phosphorylation-driven assembly of the RIP1-RIP3 complex regulates programmed necrosis and virus-induced inflammation. *Cell*. 2009 Jun;137(6):1112-23. doi: 10.1016/j.cell.2009.05.037
28. Hüttemann M, Helling S, Sanderson TH, Sinkler C, Samavati L, Mahapatra G, et al. Regulation of mitochondrial respiration and apoptosis through cell signaling: cytochrome c oxidase and cytochrome c in ischemia/reperfusion injury and inflammation. *Biochim Biophys Acta*. 2012 Apr;1817(4):598-609. doi: 10.1016/j.bbmbio.2011.07.00
29. Kumar P, Shen Q, Pivetti CD, Lee ES, Wu MH, Yuan SY. Molecular mechanisms of endothelial hyperpermeability: implications in inflammation. *Expert Rev Mol Med*. 2009 Jun;11:e19. doi: 10.1017/S1462399409001112
30. Kalogeris T, Baines CP, Krenz M, Korthuis RJ. Cell Biology of Ischemia/Reperfusion Injury. *Int Rev Cell Mol Biol*. 2012;298:229-317. doi: 10.1016/B978-0-12-394309-5.00006-7
31. Fujii E, Yoshioka T, Ishida H, Irie K, Muraki T. Evaluation of iNOS-dependent and independent mechanisms of the microvascular permeability change induced by lipopolysaccharide. *Br J Pharmacol*. 2000 May;130(1):90-4. doi: 10.1038/sj.bjp.0703277
32. Moody BF, Calvert JW. Emergent role of gasotransmitters in ischemia-reperfusion injury. *Med Gas Res*. 2011 Apr;1(1):3. doi: 10.1186/2045-9912-1-3
33. Harrison DG. Cellular and molecular mechanisms of endothelial cell dysfunction. *J Clin Invest*. 1997 Nov;100(9):2153-7. doi: 10.1172/JCI119751
34. Luo S, Lei H, Qin H, Xia Y. Molecular mechanisms of endothelial NO synthase uncoupling. *Curr Pharm Des*. 2014;20(22):3548-53. doi: 10.2174/13816128113196660746
35. Parish JM, Somers VK. Obstructive sleep apnea and cardiovascular disease. *Mayo Clin Proc*. 2004 Aug;79(8):1036-46. doi: 10.4065/79.8.1036
36. Manukhina EB, Jasti D, Vanin AF, Downey HF. Intermittent hypoxia conditioning prevents endothelial dysfunction and improves nitric oxide storage in spontaneously hypertensive rats. *Exp Biol Med (Maywood)*. 2011 Jul;236(7):867-73. doi: 10.1258/ebm.2011.011023
37. Zhu T, Yao Q, Wang W, Yao H, Chao J. iNOS Induces Vascular Endothelial Cell Migration and Apoptosis Via Autophagy in Ischemia/Reperfusion Injury. *Cell Physiol Biochem*. 2016;38(4):1575-88. doi: 10.1159/000443098
38. Huribal M, McMillen MA. Role of Endothelin in Ischemia-Reperfusion Injury. *Ann N Y Acad Sci*. 1994 Jun;723:484-5. doi: 10.1111/j.1749-6632.1994.tb36784.x
39. Phillipson M, Kubes P. The neutrophil in vascular inflammation. *Nat Med*. 2011 Nov;17(11):1381-90. doi: 10.1038/nm.2514
40. Granger DN. Ischemia-reperfusion: mechanisms of microvascular dysfunction and the influence of risk factors for cardiovascular disease. *Microcirculation*. 1999 Sep;6(3):167-78.
41. Springer TA. Traffic signals for lymphocyte recirculation and leukocyte emigration: the multistep paradigm. *Cell*. 1994 Jan;76(2):301-14. doi: 10.1016/0092-8674(94)90337-9
42. Sun B, Fan H, Honda T, Fujimaki R, Lafond-Walker A, Masui Y, et al. Activation of NF-κB and Expression of ICAM-1 in Ischemic-reperfused Canine Myocardium. *J Mol Cell Cardiol*. 2001 Jan;33(1):109-19. doi: 10.1006/jmcc.2000.1280
43. Carden DL, Granger DN. Pathophysiology of ischaemia-reperfusion injury. *J Pathol*. 2000 Feb;190(3):255-66. doi: 10.1002/(SICI)1096-9896(200002)190:3<255::AID-PATH526>3.0.CO;2-6
44. Maiocchi S, Alwis I, Wu MCL, Yuan Y, Jackson SP. Thromboinflammatory Functions of Platelets in Ischemia-Reperfusion Injury and Its Dysregulation in Diabetes. *Semin Thromb Hemost*. 2018 Mar;44(2):102-13. doi: 10.1055/s-0037-1613694
45. Mohan Rao LV, Esmon CT, Pendurthi UR. Endothelial cell protein C receptor: a multiliganded and multifunctional receptor. *Blood*. 2014;124(10):1553-1562. doi: 10.1182/blood-2014-05-578328
46. Sieve I, Münster-Kühnel AK, Hilfiker-Kleiner D. Regulation and function of endothelial glycocalyx layer in vascular diseases. *Vascul Pharmacol*. 2018 Jan;100:26-33. doi: 10.1016/j.vph.2017.09.002
47. Tsui JC, Baker DM, Biecker E, Shaw S, Dashwood MR. Altered Endothelin-1 Levels in Acute Lower Limb Ischemia and Reperfusion. *Angiology*. 2004 Sep-Oct;55(5):533-9. doi: 10.1177/000331970405500509
48. Zhang C, Wa J, Xu X, Potter BJ, Gao X. Direct relationship

- between levels of TNF α expression and endothelial dysfunction in reperfusion injury. *Basic Res Cardiol*. 2010 Jul;105(4):453-64. doi: 10.1007/s00395-010-0083-6
49. Lindsberg PJ, Mattila OS, Strbian D. Mast Cell as an Early Responder in Ischemic Brain Injury. In: Chen J, Zhang J, Hu X, editors. *Non-Neuronal Mechanisms of Brain Damage and Repair After Stroke*. Switzerland: Springer; 2016. P. 255-72. doi: 10.1007/978-3-319-32337-4_13
50. Gandhi C, Motto DG, Jensen M, Lentz SR, Chauhan AK. ADAMTS13 deficiency exacerbates VWF-dependent acute myocardial ischemia/reperfusion injury in mice. *Blood*. 2012 Dec;120(26):5224-30. doi: 10.1182/blood-2012-06-440255

Submitted 08.02.2018

Accepted 29.11.2018

Сведения об авторах:

Небылицин Ю.С. – к.м.н., доцент, заведующий отделением пластической хирургии и косметологии, Клиника Витебского государственного ордена Дружбы народов медицинского университета;

Лазуко С.С. – к.б.н., доцент, заведующая кафедрой нормальной физиологии, Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет;

Кутько Е.А. – студент 6-го курса лечебного факультета, Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет.

Information about authors:

Nebylitsin Y.S. – Candidate of Medical Sciences, associate professor, head of the department of plastic surgery & cosmetology, Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University Clinic;

Lazuko S.S. – Candidate of Biological Sciences, associate professor, head of the Chair of Normal Physiology, Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University;

Kut'ko E.A. – the sixth-year medical student, Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University.

Адрес для корреспонденции: Республика Беларусь, 210039, г. Витебск, пр. Победы, 20, Клиника Витебского государственного медицинского университета, отделение пластической хирургии и косметологии. E-mail: nebylicin.uravgm@mail.ru – Небылицин Юрий Станиславович.

Correspondence address: Republic of Belarus, 210039, Vitebsk, 20 Pobedy ave., Vitebsk State Medical University Clinic, the department of plastic surgery & cosmetology. E-mail: nebylicin.uravgm@mail.ru – Yuriy S. Nebylitsin.

МЕТОДОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ПОСТАНОВКИ ОНКОЛОГИЧЕСКИХ МОДЕЛЕЙ В УСЛОВИЯХ ЭКСПЕРИМЕНТА

ПОБЯРЖИН В.В.¹, ПАШИНСКАЯ Е.С.¹, СЕМЕНОВ В.М.¹, ГОНЧАРОВ А.Е.²

¹Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет, г. Витебск, Республика Беларусь

²Республиканский научно-практический центр эпидемиологии и микробиологии, г. Минск, Республика Беларусь

Вестник ВГМУ. – 2018. – Том 17, №6. – С. 32-45.

METHODOLOGICAL ASPECTS OF SETTING UP ONCOLOGICAL MODELS UNDER EXPERIMENTAL CONDITIONS

PABIARZHYN V.V.¹, PASHINSKAYA E.S.¹, SEMENOV V.M.¹, HANCHAROU A.Y.²

¹Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University, Vitebsk, Republic of Belarus

²Republican Practical-Scientific Centre of Epidemiology & Microbiology, Minsk, Republic of Belarus.

Vestnik VGMU. 2018;17(6):32-45.

Резюме.

Организм состоит из миллионов клеток, каждая из которых обладает определенными функциями. Нормальные клетки растут, делятся и умирают в определенной закономерности. Этот процесс контролируется организмом на молекулярно-генетическом уровне. Скорость деления клеток различна в разных органах и тканях. В тех случаях, когда структура клеток меняется под воздействием различных факторов, клетки делятся бесконтрольно, с последующей миграцией за пределы своих обычных границ в другие органы и ткани. Там они формируют опухоли или остаются на стадии метастазов. Почти все опухоли развиваются в нормальных тканях, но чаще всего в тех, в которых скорость деления клеток выше.

По распространенности раковых заболеваний лидируют: рак легких, рак желудка, рак толстой кишки, рак печени, рак молочной железы, яичников и шейки матки.

Несмотря на то, что рак как онкозаболевание известно достаточно давно, его экспериментальное воспроизведение – трудный и многостадийный процесс. Воспроизведение злокачественного процесса в лабораторных условиях *in vivo* и *in vitro* отмечено в научной литературе как крупное научное достижение. Моделирование онкологических процессов в эксперименте с использованием новейших достижений науки, медицины и техники даст возможность выяснить причины возникновения и патогенеза опухолевого процесса, разработать методы его профилактики и лечения.

Ключевые слова: рак, животные, модель, клеточные культуры, перевивка, человек, опухоли.

Abstract.

The body consists of millions of cells, each of which has certain functions. Normal cells grow, divide and die in a certain conformity. This process is controlled by the body at the molecular-genetic level. The rate of cell division is different in various organs and tissues. In those cases where the structure of cells varies under the influence of different factors, cells divide without control, with subsequent migration beyond their usual boundaries to other organs and tissues. There they form tumors or remain at the stage of metastases. Almost all tumors develop in normal tissues, but most often in those where the rate of cell division is higher.

According to the spread of cancer the following types are in the lead: lung cancer, stomach cancer, colon cancer, liver cancer, breast, ovarian and cervical cancer.

Despite the fact that cancer, as an oncological disease, has been known for a rather long time, its experimental simulation is a difficult and multistage process. Simulation of a malignant process in laboratory conditions *in vivo* and *in vitro* has been noted in scientific literature as an important scientific achievement. The modelling of oncological processes in the

experiment with the use of the latest achievements of science, medicine and technology will provide an opportunity to clarify the causes of the onset and pathogenesis of the tumor process, to elaborate methods of its prevention and treatment.

Key words: cancer, animals, model, cell cultures, ligation, human being, tumors.

В настоящий момент процент онкозаболеваемости непрерывно растет, причем от рака страдают не только люди, но и представители животного мира. В связи с этим онкологию, по нашему мнению, можно отнести в равной мере как к медицинским, так и биологическим наукам.

Появление новообразований – патологический процесс, который является результатом эпигеномного или мутационного изменения экспрессии генов-регуляторов клеточного деления, сопровождающийся неконтролируемым и потенциально неограниченным делением клеток. Для роста и развития онкоклеток в более объемные структуры – опухоли необходимо отсутствие реакции на действие кейлонов (тканеспецифичные гормоны местного действия, тормозящие пролиферацию клеток посредством ингибирования синтеза ДНК в клетках-предшественниках), за счет чего исчезает лимит Хейфлика. Такие изменения могут быть как наследственными, так и спонтанными или индуцированными.

На современном этапе исследования в области онкологии идут по экспериментальному и клиническому направлениям, которые взаимосвязаны. В экспериментальной онкологии используются как общебиологические методы и методики, так и специфические для решения определенных целей и задач. Выяснение и оценка роли в этиологии опухолей вирусов, простейших, гельминтов, ионизирующего излучения, канцерогенных веществ; изучение закономерностей опухолевого процесса опытным путем направлено, чаще всего, на достижение улучшения диагностики, лечения и профилактики рака у человека.

Целью настоящей статьи является систематизация базисных принципов, методов, методик, способов и средств воспроизведения онкомоделей в эксперименте для использования в научно-практической деятельности.

История

Первые попытки экспериментального воссоздания опухолевого процесса датируются концом XIX – началом XX века и считаются значительным научным достижением. Так, русскими учеными И.М. Львовым и Н.Л. Петровым впер-

вые были проведены опыты по трансплантации опухолевых тканей в организм взрослого животного. Замечено, что на месте введения клеточных структур возникали конгломераты, напоминавшие тератомы, а в случаях, когда к пересаженной ткани добавляли канцерогенные вещества (мышьяк, индол, каменноугольная смола, 1,2,5,6-добензантрацен), образовывались злокачественные опухоли [1, 2, 3].

Немногим позже М.М. Руднев и его ученик М.А. Новинский впервые успешно гомотрансплантировали спонтанно возникшую опухоль собаке, а еще через 10 лет А.Н. Напав также экспериментально подтвердил возможность перевивки злокачественных опухолей.

Уже ко второй половине XX века была разработана методика перевивки опухолевых единиц в ткани с пониженной иммунной реактивностью (глаз, мозг, защечные мешки хомячков). Все это осуществлялось на фоне подавления иммунной системы ионизирующим излучением или введения кортизона.

В России к концу XIX века написано большое количество работ, в которых выдвинуты предположения об этиологии злокачественного роста, подкрепленные новыми экспериментально полученными морфологическими данными. Такие ученые, как И.М. Сеченов, С.П. Боткин и И.П. Павлов, на тот момент, оказали весьма масштабное влияние на развитие биологических и медицинских наук, проверяя различные многочисленные концепции происхождения злокачественных опухолей.

Профессором В.В. Подвысоцким впервые сделан вывод о том, что в происхождении рака имеют значение бластомогенные экзогенные химические вещества, что было подтверждено экспериментально. Он один из первых предложил и опробовал химиотерапевтическое лечение злокачественных опухолей, а также экспериментально опроверг теорию зародышевых зачатков Конгейма. Высказанная В.В. Подвысоцким мысль о полиэтиологической природе рака нашла свое подтверждение: «Не может быть одной, единой причины различных опухолей, так как избыточный рост тканей может быть вызван различными способами». Как материалист ученый выделял одно из наиболее определенных значений в про-

исхождении опухолей, а именно влияние эндогенных бластоматозных химических факторов, вызываемых клетками организма.

Интерес также представляют исследования, проведенные с 1908 по 1911 годы. Ученые V. Ellermann и O. Bang, а также Ф. Раус в ходе опытов по трансплантации сарком и лейкозов кур заметили, что некоторые из них перевиваются бесклеточным фильтратом. В свою очередь, в 1933 году Р. Шоуп описал процесс перевивки папилломы кожи от диких кроликов лабораторным. При анализе папилломного фильтрата был обнаружен биологический компонент, имевший ряд вирусных свойств.

Дж. Биттнер, изучавший рак молочной железы у мышей, так называемых раковых линий, выяснил, что существуют факторы передачи (например, фактор молока), характерные только для определенных млекопитающих. В целом, 20 век также знаменит открытием ряда вирусов лейкозов и их форм, а также ряда вирусов, способных вызывать различные опухоли (вирус полиомы или вирус SV40).

Немало времени уделено и разработке методов индукции канцерогенеза различными факторами и агентами, с помощью которых можно получить опухоль в эксперименте. G. Raulol-Lapointe, J. Clunet впервые вызвали возникновение саркомы у крыс с помощью рентгеновского излучения, а группа других ученых (Г.Г. Гамбаров и Б. Блох, Г.А. Зедгенидзе, А.Р. Jonkhoff), применяя это же воздействие, получили рак кожи у кроликов и саркому у мышей.

G.M. Findlay, A.H. Roffo, Н.Н. Петров доказали, что злокачественные опухоли могут возникать под воздействием ультрафиолетового излучения. Кроме того, введение радиоактивных веществ крысам и кроликам, обезьянам и морским свинкам приводило к появлению злокачественных новообразований (F. Deals и др., 1926).

Хотелось бы отметить, что экспериментальная онкология имеет большой запас весомых открытий в области возникновения профессионального рака. Первыми идут химические агенты различной природы, в результате воздействия которых происходит перерождение клеток. Значимое обоснование концепции химического онкогенеза в эксперименте было найдено японскими исследователями К. Yamagiwa, К. Ichikawa (1914-1916). Путем втирания каменноугольной смолы они добились возникновения плоскоклеточного ороговевающего рака кожи у кроликов. Кроме того, в тридцатых годах 20 века в мире была получена

серия химически чистых онкогенных веществ и доказано их избирательное воздействие на различные органы и ткани.

Начало 20 века было отмечено научными достижениями Н.А. Вельяминова, который впервые предположил, что при раке молочной железы имеет значение нарушение функций желез внутренней секреции. Экспериментально эта теория была доказана в 1932 году ученым А. Лакассань при моделировании рака молочной железы у мышей-самцов (при введении фолликулина). Кроме того, независимо друг от друга многими другими исследователями было выявлено, что при введении половых гормонов наблюдается развитие опухолей гипофиза, молочной железы, матки, предстательной железы, сопровождающееся нарушениями функций гипофиза и обмена веществ, особенно обмена стероидов.

Немногим позже история онкологии дополнилась наградами и общественным признанием деятельности выдающихся ученых-онкологов, хирургов, труды которых отмечены различными премиями. Одной из самых весомых является Нобелевская. Так, Нобелевским лауреатом стал А. Каррель (Франция, 1912) за создание метода культивирования тканей; Й. Фибигер (Дания, 1926) - за «открытие паразита, вызывающего рак»; Г. Меллер (США, 1946 г.) – за метод получения мутации с помощью рентгена; Ф. Раус (США, 1966) – за открытие первого вируса саркомы. В 1976 году за дальнейшее изучение вирусов саркомы была награждена группа ученых (под руководством Р. Дульбекко) из США. Г. Келер (Германия), С. Мильштейн (Англия) и Н. Ерне (Дания) в 1984 году удостоены премии за разработку метода получения моноклональных антител, а в 1989 году Дж. Бишоп и Г. Вармус (США) – за открытие первого онкогена вируса саркомы Рауса. В 2001 году У. Ноулз с соавторами получил премию за разработку технологии синтеза противораковых препаратов на основе хиральных молекул. Открытие ключевых генов, регулирующих развитие органов и запрограммированную смерть клетки (апоптоз) отмечено Нобелевской премией (С. Бреннер и соавт.) в 2002 году. В области медицины и физиологии лауреатами Нобелевской премии стали генетики Э. Файр и К. Мело за исследования свойств РНК, которые могут использоваться в лечении рака и других заболеваний (2006). Благодаря открытиям в области эмбриональных стволовых клеток у млекопитающих как надежного научного инструмента для биомедицинских исследований в

области онкологии и терапии других заболеваний М. Капекки (США), М. Эванс (Великобритания) и О. Смитис (США) стали лауреатами данной премии в 2007 году. За выявление вирусов папилломы человека (ВПЧ), вызывающих рак шейки матки, премия была присуждена Х. Цурхаузен (Германия). Э. Блэкберн, К. Грейдер и Дж. Шостак получили эту же премию в 2009 году за открытие механизма защиты хромосом теломерой и фермента теломеразы. Теломеры играют определенную роль в возрастных изменениях клеток и всего организма и в развитии злокачественных заболеваний. Дальнейшие исследования их динамики и принципов работы удлиняющего их фермента теломеразы могут помочь найти новые пути борьбы со старением и раком.

В 2011 году Ж. Хоффман, Б. Бойтлер получили Нобелевскую премию по медицине за работы по изучению активации врожденного иммунитета, а Р. Стейнмен – за открытие дендритных клеток и изучение их значения для приобретённого иммунитета; С. Яманака и Дж. Гёрдон (2012) – за работы в области биологии развития и получения индуцированных стволовых клеток. В период с 2013 по 2018 годы Нобелевская премия по медицине была присуждена: Дж. Ротману, Р. Шекману и Т. Зюдхофу – за открытие механизма, регулирующего везикулярный трафик; Дж. Холлу, М. Янгу – за исследования молекулярных механизмов контроля циркадных ритмов.

Хотелось бы сказать, что отечественная экспериментальная и практическая онкология, благодаря упорному труду ученых и медиков, также достигла немалых высот. Ведется работа по установлению фазного механизма движения и контроля формы опухолевых клеток, трансформированных разными онкогенами, лежащих в основе опухолевой инвазии; разрабатываются новые маркеры для дифференциальной диагностики опухолей молочной железы и шейки матки; биологические микрочипы на основе иммуноглобулинов для диагностики лимфом и лейкозов; изучаются системы развития множественной лекарственной устойчивости на молекулярном и клеточном уровнях, а также индивидуальные подходы к метаболизму канцерогенных веществ, определяющих риск бластомогенеза; проводятся молекулярно-генетические исследования, касающиеся патогенетических механизмов возникновения и биологии опухолей для применения полученных результатов для таргетной терапии.

Таким образом, накоплен значительный ба-

гаж знаний в области экспериментальной и клинической онкологии. Несмотря на это, проблема раковых заболеваний остается весьма актуальной. Выяснение новых механизмов возникновения злокачественных опухолей будет способствовать их ранней диагностике и нивелированию последствий для организма.

Экспериментальные модели

Для изучения молекулярно-генетических механизмов бластомогенеза крайне важно подобрать соответствующую модель. Адекватность использования моделирования рака *in vivo* зависит от точности воспроизведения онкозаболевания, включающего равные гистопатологические особенности перевиваемых образцов, стадийность, физиологические и системные эффекты. Кроме того, в экспрессии и развитии опухоли должны участвовать одинаковые гены и биохимические пути, а ответ организма как системы должен быть максимально достоверным при применении специфического лечения для точного прогноза терапевтической эффективности [4, 5].

Для исследования онкогенеза на сегодняшний день наиболее часто используют мышинные и крысиные модели, хотя иногда упоминаются и другие [6-8].

По нашему мнению, мышь как модель имеет ряд преимуществ по сравнению с другими млекопитающими: финансово выгодное содержание, короткий репродуктивный цикл, возможность использования методов генной инженерии.

В 1909 году первая инбредная линия мышей (DBA) была получена американским онкологом Литтлом. Дальнейшая работа по созданию линий мышей для онкологических исследований позволила вывести несколько сот линий, каждая из которых имеет определенные характеристики. У одних в определенном возрасте могут возникать опухоли печени, молочной железы, легких или лейкозы. Их называют высокораковые и высоколейкозные линии. Высокоракowymi линиями мышей являются A/Sn, C3H/Sn, DBA/1, CBA/1 (рак молочных желез); CBA/Lac, C3HA (опухоли печени); AKR/1, C58, DBA/2 (лейкозы); линия 101/H используется для индукции кожных и легочных опухолей.

У низкораковых животных опухоли возникают с малой частотой или не возникают совсем. К таким представителям можно отнести знаменитую линию BALB/c (Bagg albino C), созданную Хелси Баггом, C57Bl/6J – инбредную линию черной ма-

сти, которая используется практически во всех медицинских и биологических исследованиях. Обе вышеперечисленные линии являются стандартными для поддержания мутаций, исследования культур тканей, гематологии, химиотерапии рака.

Для работ иммунологов и онкологов требуются мыши с подавленным иммунитетом (ксенографты). У этих мышей отсутствует тимус (вилочковая железа) и волосяной покров. Они известны под названием «голые мыши» (nude mouse). У ксенографтов блокируются (нокаутуются) отдельные гены ради исследования их функций или симулирования человеческих заболеваний. У трансгенных мышей геном также может содержать вживленные чужеродные гены. Одной из разновидностей таких животных являются онкомыши – (genetically engineered mouse models – GEMM). GEMM позволяют достаточно точно моделировать спорадические человеческие опухоли за счет контролируемого изменения генома, что обеспечивает развитие конкретной опухоли с определенными свойствами в заданной локализации.

Ярким примером трансгенных мышей является линия с повышенной экспрессией онкогена HER2/neu. У этих животных в возрасте от 2 месяцев появляются опухоли молочных желез (HER2/neu-положительных).

Кроме мышей, к настоящему времени созданы и инбредные линии крыс, большинство которых получены в виварии при Вистаровском институте США (линия Wistar). Хотя крысы Wistar не являются высококоракковой линией, они применяются в экспериментах связанных с индукцией опухолей канцерогенами, а также для работы с перевиваемыми опухолями [2, 3].

Клеточные линии для воспроизведения канцерогенеза

В качестве экспериментальных моделей в онкологии широко используют перевиваемые или постоянные клеточные линии, которые представляют собой клетки различных опухолевых и неопухолевых тканей человека и животных, способные к росту и размножению в условиях *in vitro* и *in vivo* [9].

Принято различать следующие типы культур клеток: первичные и перевиваемые. Первичные культуры получают из клеток, выделенных из органов или тканей при помощи ферментативной обработки или методом эксплантов. Как описано в литературе, лучше всего проводить забор ма-

териала из органов эмбрионов, так как для таких клеточных структур характерен высокий потенциал к росту (почки, легкие, кожу, тимус, тестикулы эмбрионов). В лабораторных условиях культуры растут либо в суспензии (в виде отдельных или небольших свободноплавающих микроколоний клеток) или в виде монослоя [9].

Известно, что в экспериментальной практике используют субкультуры, которые получают из первичных клеток, выращенных в культуральных флаконах. Полученные клетки снимают с поверхности раствором версена или трипсина, ресуспендируют в новой питательной среде и пересевают заново. Примерно через 3–4 суток возможно формирование монослоя. Важным является тот аспект, что, если клеточные культуры прошли более 10 пассажей, они уже на стадии перехода к перевиваемым культурам клеток.

Перевиваемые культуры клеток – это клетки, способные неопределенно длительное время размножаться вне организма. В лабораториях их поддерживают путем пересевов с заменой питательной среды. Чаще всего такие клетки имеют одинаковую форму, гетероплоидны, по сравнению с первичными, достаточно стабильны в условиях роста *in vitro*. Показано, что перевиваемые культуры можно получать как из здоровых тканей, так и из опухолевых.

Процесс получения клеточных линий чрезвычайно сложен и длителен. Обычно выход культивированных *in vitro* клеток в постоянные клеточные линии не превышает 1–2%.

В питательную среду, находящуюся в культуральной посуде, высевают опухолевые или нормальные клетки с добавлением (при необходимости) факторов роста и помещают в термостат. В термостате при оптимальных условиях происходит адаптация и размножение клеток с образованием культуры клеток (суспензионной или монослойной). В дальнейшем осуществляется промывка монослоя клеток с удалением нежизнеспособных клеток со следующим пересевом небольшого числа жизнеспособных клеток в новые емкости. Результатом многократных пассажей является получение клеток, адаптированных к росту в культуральной среде, обладающих уникальными свойствами. Для длительного сохранения полученные культуры подвергают криоконсервации в специальных жидких средах.

На данный момент в Европейской коллекции клеточных культур (ECACC) находится огромное количество наименований. Республика

Беларусь также обладает своим банком клеток. К примеру, РНПЦ эпидемиологии и микробиологии г. Минска (лаборатория иммунологии и клеточной биотехнологии) для воспроизведения экспериментальных моделей располагает следующими линиями клеток: 46-47 – африканская зеленая мартышка; глиобластома человека – A-172; С6 – глиома крысы; C8166 – Т-лимфобластный лейкоз человека; CaCo-2 – человек, аденокарцинома ободочной кишки; CCRF-SB – человек, острый лимфобластный лейкоз (В-клетки); CEM.NKR – человек, Т-лимфобластный лейкоз; Daudi – человек, лимфома Беркитта; EL-4 – мышь, лимфома, индуцированная диметилбензантраценом; FL – человек, амнион; FRhK-4 – макака-резус, почка; HaCaT – человек, иммортализованные кератиноциты; HEK-293 – человек, почка эмбриона; Hela М – человек, эпителиоподобная карцинома шейки матки; HEP-2 – человек, эпидермоидная карцинома гортани; HL-60 – человек, промиелоцитарный лейкоз; HuTu 80 – человек, аденокарцинома двенадцатиперстной кишки; IM-9 – человек, миелома; IMR-32 – человек, нейробластома; Jurkat – человек, Т-лимфобластный лейкоз; Jurkat-tat – человек, Т-лимфобластный лейкоз; KG-1 – человек, острый миелоидный лейкоз; L929 – мышь, эмбрион; L1210 – мышь, асцитная жидкость (лимфобластный лейкоз); Ma-104 – макака-резус, почка эмбриона; McCoy В – мышь, клетки синовиальной жидкости; MDCK – собака, почка; MDCK (NBL) – собака, почка; Molt-3 – человек, Т-лимфобластный лейкоз; Molt-4 – человек, Т-лимфобластный лейкоз; Molt-4, Клон 8 – человек, Т-лимфобластный лейкоз; MRC-5 – человек, легкое эмбриона; MT-2 – человек, Т-лимфобластный лейкоз; MT-4 – человек, Т-лимфобластный лейкоз; NFS-60 – мышь, миелоидный лейкоз; OKP-GS – человек, карцинома почки; P388D1 – мышь DBA/2, лимфоидная неоплазма; P3X63Ag8.653 – мышь BALB/c, миелома, клон линии P3X63Ag8; PA-1 – человек, тератокарцинома яичника; Raji – человек, лимфома Беркитта; RD – человек, эмбриональная рабдомиосаркома; RPMI-1788 – человек, лейкоциты периферической крови здорового донора; T24 – человек, карцинома мочевого пузыря; U-2 OS – человек, остеосаркома; U-251 – человек, глиома; U-937 – человек, гистиоцитарная лимфома; Vero – африканская зеленая мартышка, почка; Vero (V) – африканская зеленая мартышка, почка, сублиния Vero; ZR-75-1 – человек, рак молочной железы; СПЭВ – свинья, почка эмбриона; CV-1 – африканская зеленая мартышка, почка; HCT-116 – чело-

век, карцинома толстой кишки; THP-1 – человек, острый моноцитарный лейкоз; MDBK (NBL-1) – бык домашний, почка.

Методы воспроизведения асцитной и солидной опухолей на экспериментальных животных

При экспериментальном воспроизведении опухолевого процесса можно добиться возникновения асцитной и солидной форм злокачественных образований [10, 11]. Асцитные – перевиваемые внутрибрюшинно, вызывающие образование в полости брюшины экссудата, содержащего опухолевые клетки, и солидные – опухоли, развившиеся не из клеток кроветворной системы (негемопэтические). Салидные опухоли могут быть доброкачественными и злокачественными, но чаще говоря о них, подразумевают именно злокачественные опухоли [11, 12].

На данный момент многообразие моделей экспериментальной онкологии предлагает к воспроизведению спонтанные и индуцированные перевиваемые опухоли с помощью гомотрансплантации (аутоотрансплантация, сингенная) и гетеротрансплантации (алло- и ксенотрансплантация) различными способами [13, 14].

Спонтанные опухоли животных применяются довольно часто для постановки экспериментов. Спонтанными они называются потому, что возникают у представителей животного мира без каких-либо воздействий со стороны экспериментатора. Изучение такого типа новообразований способствует выявлению основных закономерностей злокачественного роста, которые схожи для всех живых организмов. Впервые такой тип возникновения канцерогенных процессов был зафиксирован и применен в опытах с использованием нелинейных животных [15].

Известно, что наиболее популярным объектом у онкологов среди беспозвоночных животных является дрозофила. На этом виде плодовой мухи часто проводятся изучения механизмов генетической предрасположенности к опухолям. Кроме мух, в экспериментах используют рыб как наиболее удобную модель для исследования канцерогенных факторов в естественных условиях. Но классическими объектами экспериментальной онкологии, несомненно, являются млекопитающие. Предпочтение, прежде всего, отдается мышам и крысам, которые хорошо адаптируются к условиям жизни в неволе и дают многочисленное

потомство. Дело в том, что у мышей чаще всего встречаются опухоли молочных желез, которые могут возникнуть множественно (у самок пять пар молочных желез) [16, 17].

Что касается неллинейных крыс, то спонтанные опухоли молочных желез возникают гораздо реже, чем у мышей, но они также служат объектом исследования онкологов.

Показано, что у кроликов часто возникает папиллома, вызываемая ДНК-содержащим вирусом, которая изначально представляет собой доброкачественные новообразования на коже ушей, со временем превращающиеся в злокачественную опухоль, дающую метастазы в легкие и лимфоузлы. Такая модель может применяться для изучения вирусного этиогенеза и иммунологических аспектов рака [2, 18].

Что касается домашних животных, то в большей степени бластомагенез зафиксирован у собак. Как модель в нашей стране этих животных практически не используют из-за этических соображений (исключение в некоторых странах – на последних предклинических этапах испытания противоопухолевых химических соединений).

Несмотря на все вышеперечисленное, минусом использования спонтанных опухолей как онкомодели является низкая частота их возникновения и, как результат, трудности с одномоментным использованием материала в объеме, достаточном для изучения.

Впервые экспериментальным путем индуцированные опухоли получили Ямагива и Ишикава с помощью многократного смазывания кожи кролика каменноугольным дегтем. В скором времени канцерогенные вещества были выделены в чистом виде и стали использоваться для индукции опухолей у животных [18, 19].

Известно, что возникновение опухолевых структур может быть индуцировано у животных и человека онкогенными вирусами. Так, например, лимфома Беркитта, распространенная в Африке, может иметь вирусную этиологию. Вирус иммунодефицита человека (ВИЧ) на фоне общей иммунодепрессии может вызывать развитие саркомы Капоши и лимфомы. Имеются данные, что вирус папилломы (особенно тип 16 и 18) увеличивает вероятность заболевания раком шейки матки. В группу повышенного риска входят лица, больные гепатитами В и С. Изменения в печени, вызываемые этими вирусами, создают условия для возникновения рака печени.

Известно, что новообразования различной

этиологии могут возникнуть под воздействием различных видов облучения. Так, у людей и экспериментальных животных, подвергшихся действию ионизирующей радиации, чаще всего возникают опухоли кроветворной ткани, костей, легких, печени, щитовидной железы и других органов.

Одну из главных ролей в патогенезе злокачественных опухолей может играть нарушение баланса гормонов. В эксперименте по моделированию бластомагенеза при введении гормонов или, наоборот, удаления желез внутренней секреции (гипофиза, яичников) многими учеными показан интенсивный рост и развитие опухолей у животных.

Из всего вышеизложенного понятно, что модели опухолей животных, индуцированные абиотическими и биотическими факторами, а также модели злокачественно трансформированных клеток, культивируемых в условиях *in vitro*, позволят более предметно рассмотреть общую концепцию молекулярных механизмов возникновения опухолей и, в принципе, имеют свою актуальность по сей день. Но их многообразие, сложности в воспроизведении требуют разработки новых подходов с учетом всех достижений ученых и медиков как прошлого, так и современного этапа развития науки.

Методы перевивки спонтанной и индуцируемой опухолей на животной модели (гомо- и гетеротрансплантация)

Из наиболее известных методов воспроизведения экспериментального опухолевого процесса можно выделить перевивку в переднюю камеру глаза. В начале работы животное в первую очередь подвергают наркозу. Далее отодвигают веки, глазным скальпелем по верхнему краю лимба делают небольшой надрез роговицы и пинцетом в надрез помещают образец опухолевой ткани диаметром 1-2 мм. После этого веко животного обрабатывают и проводят ежедневный контроль его состояния. Чаще всего заметные изменения фиксируют примерно на 4 неделе после проведенной манипуляции, но при перевивке гетерологических опухолей, особенно опухолей человека, результат можно увидеть только через несколько месяцев [1-4].

К преимуществу метода трансплантации в переднюю камеру глаза можно отнести возможность прижизненного наблюдения за всеми процессами после перевивки, а к минусам то, что даже при сверхинтенсивном росте трансплантата, он достигает очень малых объемов и использование его для серий перевивок практически невозможно.

Следующий метод – перевивка в мозг. У крупных животных (кроликов, морских свинок, крыс) после наркотизации, удаления шерсти в области операционного поля и обработки операционного поля антисептическим раствором скальпелем делают надрез кожи в теменной области (кпереди от уха, с отступом на 5 мм от средней линии). Далее края кожи разводят и делают бормашиной трепанационное отверстие в черепе. После этого через отверстие в ткань мозга вводят кусочек опухоли с помощью троакара или иглы Дюфо с несколько затупленным концом. Заканчивают процедуру накладыванием 2 швов [1-4].

Методика перевивки опухоли в мозг мелким животным (мышам) более проста. Сначала готовят троакар (или иглу для пневмоторакса) в который заранее закладывают трансплантат. Далее грызуна «оглушают» эфиром, указательным и большим пальцами левой руки фиксируют голову мыши, кожу головы смазывают йодной настойкой. Троакаром прокалывают кожу и кость черепа (несколько кпереди и выше уха, не доходя до средней линии), и вживляемый кусочек выталкивают мандреном в ткань мозга, после чего иглу быстро извлекают. Отдельные особи могут погибнуть через 1-3 дня после манипуляции, а у остальных видимые изменения начинают наблюдаться в сроки от одной недели до 5 месяцев (индивидуально). Так, на поздних стадиях могут появляться симптомы нарушения ЦНС (центральной нервной системы): вялость, парезы, вестибулярные нарушения (постоянное «кружение»). К визуальным признакам также относят характерное выпячивание теменных костей. Как отмечают исследователи, после появления этих симптомов животные погибают. При вскрытии у них визуализируется опухолевый узел, расположенный на поверхности или в толще полушария мозга [11, 20].

Исходя из вышеизложенного, можно сделать вывод, что данный метод характеризуется несколькими недостатками: сложность манипуляций и невозможность слежения за трансплантатом до самого момента смерти животного, а это является очень важным. Дело в том, что если рост трансплантата незначителен, то клинические симптомы могут не возникнуть вообще и опухолевую ткань удастся обнаружить только при гистологическом исследовании мозга.

В 1954 году описан способ перевивки опухоли в ткань легкого мыши путем введения взвеси опухолевой ткани в нос («Воспроизведение заболеваний у животных для экспериментально-тера-

певтических исследований», Лазарев Н.В., 1954). Ступени перевивки следующие: мыши подвергаются легкому эфирному наркозу. Далее пастеровской пипеткой или туберкулиновым шприцем на кончик носа мышью наносят асцитическую жидкость, полученную при карциноме Эрлиха мышью, закрывая обе ноздри (около 10 капель=0,05 мл по мере втягивания их мышью в нос). Правильно проведенные манипуляции дают более 90% удачных перевивок. Узелки опухоли обнаруживаются на 12-15 день, а опухоли значительной величины – на 20-25 день.

Один из способов воспроизведения злокачественного процесса в эксперименте предложен Ю.С. Сидоренко и соавт. в 1991 году на примере перевивки саркомы С-45 (крысиная) самцам белых беспородных крыс. Авторы предлагают этот способ для получения злокачественной опухоли, растущей в ткани легкого. Взвесь опухолевых клеток перед введением разводят стерильным физиологическим раствором 1:5 по объему и набирают в стерильный шприц. Самцам белых беспородных крыс, после фиксации их на спине, вводят опухолевую взвесь в подключичную вену в дозе 0,5 мл. На 14-21 сутки от момента перевивки саркомы С-45 у самцов развивается визуализируемая опухоль, которую можно извлечь и перевить. По мнению авторов, этот способ должен обеспечивать 100% воспроизводимость, приводя к перевивке опухолевых трансплантатов во всех случаях, что, в свою очередь, даст возможность постановки массовых экспериментов за относительно короткий срок и в большом количестве при простоте исполнения [21].

Коллективом ученых Государственного учреждения «Республиканский научно-практический центр онкологии и медицинской радиологии им. Н.Н. Александрова» (Истомин Ю.П. и др.) в 2012 году был предложен способ соно-фотодинамической терапии перевитой подкожно клеток глиомы линии С6 у крысы. Эта глиома относится по видовой принадлежности к крысиным опухолям. Способ перевивки осуществляли следующим образом. Опухоль имплантировали подкожно, в левую паховую область путем введения 0,5 мл 10%-ной опухолевой взвеси в растворе Хенкса. Через 10-12 дней по достижении размеров опухоли 1,0-1,5 см в диаметре животное можно использовать для дальнейшего эксперимента [22].

Показано, что среди перевиваемых меланом наиболее часто применяют меланомы мышью – Хардинга-Пасси, В-16 и S-91 Клаудмана. Из-

вестно, что меланома B16 возникла спонтанно у основания уха в коже мыши линии C57BL/6 в 1954 году. Полученный штамм до сих пор поддерживается на мышцах линии C57BL/6 путем перевивки опухолевой взвеси. Кроме того, отмечено, что поведение трансплантата меланомы зависит от способа перевивки. К примеру, при перевивке под кожу развитие опухоли составляет 100% и меланома метастазирует преимущественно гематогенно в легкие (60-90%), реже – в печень и селезенку [20, 23, 24]. Для инъекции опухолевых клеток в хвостовую вену с 90% частотой характерно развитие метастазов в легких. Внутривентриальная имплантация этих онкоклеток приводит к росту в виде множественных мелких узелков, выстилающих брюшную полость. Полученная таким образом популяция клеток опухоли гетерогенна и состоит как из сильно пигментированных участков, так и фрагментов с незначительным содержанием или полным отсутствием меланина. Модальный класс опухоли насчитывает 40 хромосом. Проллиферативный пул в момент перевивки опухоли составляет 71,6% [23, 25].

В 2010 году Сеньковой А.В. в процессе диссертационного исследования была применена методика перевивки мышью с лимфосаркомы RLS40. Суспензию клеток опухоли RLS40 в физиологическом растворе (5×10^6 кл/мл) объемом 0,1 мл трансплантировали мышам внутримышечно в правую заднюю лапку для формирования солидной опухоли. Как пишет автор, на 17-ый день опухолевого роста опухоль достигла значительных размеров, что позволило проводить дальнейшие манипуляции [26, 27].

Другим ученым (Киреева Г.С., 2015 г.) при проведении внутривентриального химиоперфузионного лечения диссеминированного рака яичника в эксперименте был использован штамм опухоли яичника (ОЯ), который вводился крысам внутривентриально. Асцитическую жидкость получали путем пассажа от крысы крысе. Кожу живота животного с ОЯ обрабатывали 5% спиртовым раствором йода, иглой среднего диаметра осторожно прокалывали брюшную стенку и набирали в шприц асцитическую жидкость. Затем готовили разведение асцита в соотношении 1:4 – к 1 мл асцита добавляли 3 мл 0,9% физиологического раствора. Подсчет опухолевых клеток проводили в камере Горяева. Далее кожу живота крысы-реципиента обрабатывали 5% спиртовым раствором йода, иглой среднего диаметра осторожно прокалывали брюшную стенку, после чего вводили

внутрибрюшинно онкоклетки в количестве 1×10^7 . Приживление ОЯ составляла 100%. Опухоль быстро прогрессировала, приводя к развитию перитонеального карциноматоза, асцита и гибели крыс на 9-17-й дни после перевивки. На вскрытии регистрировали опухолевый асцит (от умеренного до выраженного), который в 90% случаев был геморрагический. У крыс, проживших 15-17 дней, отмечали опухолевые узлы белого цвета размерами 1-3 мм в большом сальнике, брыжейке кишечника, на париетальной и висцеральной брюшине [28, 29].

Гетеротрансплантация опухолевых структур животным, получающим кортизон (препарат, способствующий подавлению иммунных и аллергических реакций), применяется достаточно широко в научной практике. В опыт чаще всего берут мышевидных грызунов, не достигших половой зрелости. Клеточную суспензию перевиваемой опухоли вводят под кожу спины или внутривентриально шприцем, после чего сразу же, немного отступив от места первой инъекции, вводят кортизон из расчета 0,05 мг на грамм массы тела животного. Манипуляции с введением кортизона подопытным повторяют с регулярностью два раза в неделю до конца опыта в тех же дозах. Как отмечают исследователи, кортизон может оказать выраженное токсическое действие на животных, поэтому необходимо постоянное наблюдение. При появлении признаков интоксикации инъекции прекращают или уменьшают дозировку. В некоторых научных работах сказано, что если за 3 суток перед перевивкой произвести облучение мышевидных грызунов рентгеновыми лучами (в дозе до 200 r), то дозировку кортизона можно сократить в два раза [30].

Так, в ряде экспериментов по перевивке крысам некоторых опухолей мышей на 10-12 день после трансплантации у реципиентов, получавших кортизон, образовывались опухолевые узлы внушительных размеров.

Однако если грызунам приживляли злокачественные опухоли человека (+ кортизон по схеме), то значительного роста структур не происходило. У животных после вскрытия (12-14-е сутки) в области введения раковых клеток фиксировались только небольшие узелки, при гистологическом исследовании которых констатировалось наличие опухолевой ткани.

Существует еще один метод перевивки гетерологических опухолей – в защечные мешки хомякам (*Mesocricetus auratus*, массой 60-80 грамм). Под наркозом у животного пальцем выворачивают защечный мешок, слизистую которого глаз-

ным пинцетом вытягивают наружу, расправляют и промакивают марлей. Далее с помощью шприца с иглой, содержащего предварительно подготовленную суспензию опухолевых клеток, делают прокол слизистой у основания защечного мешка, медленно проводя иглу к его верхней части, после чего вводят 0,1-0,2 мл суспензии. Если нужно ввести не суспензию, а кусочки тканей, можно воспользоваться троакаром. Многие ученые рекомендуют перевивку в оба мешка. Далее, независимо от выбранного объекта трансплантации, незамедлительно под кожу хомяку вводят кортизон по той же схеме и с таким же контролем, как и у вышеописанных животных.

Хотелось бы отметить, что после такой трансплантации некоторые штаммы мышинных опухолей показывают значительный рост в защечном мешке хомяка через 10-15 дней после манипуляций. Трансплантат растет непосредственно под прозрачной слизистой оболочкой, что позволяет отслеживать все изменения. Однако вживляемые новообразования человека независимо от того, вводилась ли клеточная суспензия или кусочек ткани, показывают рост через 2-3 месяца после введения. Это, конечно, относится к существенным минусам.

Следующий запатентованный способ моделирования лимфогенного и гематогенного метастазирования мышинной меланомы B16 у белых нелинейных крыс (О.И. Кит и соавт., 2016) заключается в том, что после предварительного выведения селезенки под кожу передней брюшной стенки через 2 недели в нее имплантируют суспензию опухолевых клеток мышинной меланомы B16 в физиологическом растворе объемом 0,1 мл (разведение 1:10). Через полгода от момента перевивки регистрируют лимфогенный и гематогенный путь распространения меланомы с морфологически подтвержденным метастатическим поражением внутренних органов [31].

В.И. Киселевым и соавт. в процессе изучения эффективности новой фармацевтической композиции дииндолилметана в отношении подавления ксенографтов опухолей эндометрия был использован метод пересадки клеточной культуры рака эндометрия (РЭ) человека линий РЭ CRL-1622 (KLE) и НТВ-113 (НЕС-1-В). НЕС-1-В представляет собой клетки высокодифференцированной аденокарциномы, а KLE – низкодифференцированной. Мышам Balb/c-nude (nu/nu) массой 19-25 грамм в возрасте 5-6 месяцев, в зависимости от группы, проводили подкожное

введение (вдоль позвоночника, в районе левой лопатки) культуры клеток в дозе 5 миллионов (25×10^6 клеток/мл на животное).

В модели РЭ человека CRL-1622 (KLE) средняя продолжительность жизни мышей составила $32,9 \pm 6,55$ дня. Средний объем развившихся опухолей составил $1\,635,05\text{ мм}^3$ [32].

Продолжительность жизни мышей группы KLE составила $35,4 \pm 5,14$ дня, а средний объем развившихся ксенографтных опухолей составил $1\,616,7\text{ мм}^3$.

При изучении спектра биологических активностей новых производных глицирретовой кислоты и молекулярных механизмов их действия А.В. Марковым были использованы опухолевые клеточные линии человека: эпидермоидной карциномы KB-3-1, эпидермоидной карциномы шейки матки HeLa, нейробластомы SK-N-MC, аденокарциномы молочной железы MCF-7, гепатоцеллюлярной карциномы HepG2, аденокарциномы прямой кишки HuTu-80, аденокарциномы легких A549. Мышам линии A/Sn в возрасте 2-3 месяцев соответственно группам внутривенно вводили клеточную суспензию в объеме 0,5 мл, содержащую 5×10^4 клеток. Образование опухоли фиксировали на 14 день соответственно [32].

В свою очередь, Е.А. Соколовой в 2016 году при проведении исследования на тему «Флуоресцирующая модель HER2-гиперэкспрессирующей опухоли яичника человека и ее использование для оценки эффективности таргетного иммунотоксина на основе экзотоксина А» для получения флуоресцирующей ксенографтной опухолевой модели использовались иммунодефицитные мыши линии BALB/c-Nude (самки, 17-23 г, 4-6 недель). Мышам вводили суспензию клеток SKOV-3 в PBS (аденокарцинома яичника человека, 2×10^6 клеток/животное) подкожно в область лопатки. На месте инъекции в течение 24 суток формировались опухолевые узлы с типичной морфологической структурой: опухолевые клетки имели крупные размеры и светлую вакуолизированную цитоплазму, очагов некроза автором обнаружено не было [33].

Таким образом, на данный момент существует большое количество методов, способов и предложений по воспроизведению той или иной модели, касающейся гомо- и гетеротрансплантации опухолей. Но все они достаточно разные: по дозировке опухолевых клеток для перевивки и срокам проведения опыта, линиям животных. Кроме того, в 98% случаев в эксперименте ис-

пользуют опухоли животных, возникшие спонтанно или развившиеся после перевивки от животного к животному.

Основываясь на данных литературы, можно сделать вывод, что трудности в экспериментах могут возникнуть из-за неправильного проведения оценки характера и состояния перевиваемой опухолевой ткани или онкоклеток; наличия в трансплантате большого количества фиброзной стромы; несоблюдения тканевой и внешней стерильности; нарушения качества приживляемых объектов; большого временного интервала между изъятием опухоли или снятием культуры с подложки и перевивкой (жизнеспособность клеток). Показано, что больший успех трансплантации наблюдается при перевивке изучаемого объекта от животного к животному одной видовой принадлежности. Однако ученые применяют и разрабатывают новые подходы к воспроизведению гетеротрансплантационных моделей. Все чаще используют опухолевые культуры клеток человека как *in vivo*, так и *in vitro*. С помощью высокоразвитых технологий исследователи создают молекулярно-генетические модели для изучения свойства опухолевых структур, закономерностей их роста и механизмов их метастазирования. Однако независимо от выбранных методик и подходов процесс воспроизведения онкологической модели трудоемок и длителен, а результат может получиться противоречивым. Показано, что при ксенотрансплантации опухолевых структур человека лучше всего прививаются плоскоклеточные раки и некоторые саркомы, а наибольшие проблемы возникают при моделировании бластогенеза желудка, лимфосаркомы и других опухолей лимфоидной ткани.

Заключение

Разработка новых методов, способов воспроизведения современных гетеротрансплантационных опухолевых моделей является необходимой. Это позволит изучить аспекты взаимоотношений опухоли и хозяина, прояснить вопрос об изменчивости опухолевой ткани, ее биохимические особенности. Полученные результаты могут внести неоспоримый вклад в оценку химиотерапевтических противоопухолевых препаратов, разработку принципов векторного воздействия с помощью вирусов, избирательно разрушающих опухолевую ткань. Все вышеперечисленное показывает ценность и необходимость разработки

новых моделей для решения различных проблем патогенеза и терапии злокачественных опухолей.

Литература

1. Модели и методы экспериментальной онкологии : практ. пособие / ред. А. Д. Тимофеевский. – М. : Медгиз, 1960. – 246 с.
2. Попова, Н. А. Модели экспериментальной онкологии / Н. А. Попова // Соросов. общ.образоват. журн. – 2000. – Т. 6, № 8. – С. 33–38.
3. Новости онкологии. Alloncology.com : [сайт]. – М., 2009–2011. – Режим доступа: <http://alloncology.com/articles/7/5/>. – Дата доступа: 30.06.2018.
4. Марков, А. В. Спектр биологических активностей новых производных глицирретовой кислоты и молекулярные механизмы их действия : автореф. дис. ... канд. биол. наук : 03.01.04 / А. В. Марков. – Новосибирск, 2015. – 22 с.
5. Структурные изменения в тимусе лабораторных крыс при развитии перевивных и спонтанных опухолей / Е. С. Джадранов [и др.] // Вестн. КазНМУ. – 2016. – № 4. – С. 287–292.
6. Печень крыс при продвинутых стадиях развития карциносаркомы Walker 256 / Т. А. Кунц [и др.] // Вестн. НГУ. Сер. Биология, клин. медицина. – 2011. – Т. 9, вып. 2. – С. 126–129.
7. Морфологические особенности печени мышей с метастатическим опухолевым процессом / О. В. Лебединская [и др.] // Современ. наукоем. технологии. – 2006. – № 5. – С. 32–33.
8. Структурные изменения в экспериментальной перевивной опухоли крыс лимфосаркома плисса после лечения циклофосфаном / Е. С. Джадранов [и др.] // Вестн. КазНМУ. – 2015. – № 3. – С. 213–215.
9. Культивирование вирусов в культурах клеток : учеб.-метод. пособие / Р. Б. Корочкин [и др.]. – Витебск : ВГАВМ, 2010. – 43 с.
10. Tillmann, T. Incidence and spectrum of spontaneous neoplasms in male and female CBA/J mice / T. Tillmann, K. Kamino, U. Mohr // Exp. Toxicol. Pathol. – 2000 Jun. – Vol. 52, N 3. – P. 221–225.
11. Экспериментальная модель опухоли головы и шеи для потенциальной таргетной терапии / И. В. Решетов [и др.] // Сиб. онкол. журн. – 2009. – № 5. – С. 43–48.
12. Гольдберг, В. Е. Современные достижения лекарственной терапии злокачественных новообразований / В. Е. Гольдберг, М. Г. Матяш // Бюл. СО РАМН. – 2004. – № 2. – С. 36–40.
13. Каледин, В. И. Изучение эффективности моно- и химиотерапии на модели перевиваемой мышинной лимфосаркомы, нечувствительной к индукции апоптоза / В. И. Каледин, Н. А. Попова, Е. М. Андреева // Вопр. онкологии. – 2006. – Т. 52, № 1. – С. 70–73.
14. Циклофосфамид - индуцированный апоптоз клеток мышинной лимфосаркомы в условиях *in vivo* / В. И. Каледин [и др.] // Вопр. онкологии. – 2000. – Т. 46, № 5. – С. 588–593.
15. Animal model of drug-resistant tumor progression / N. Mironova [et al.] // Ann. N.Y. Acad. Sci. – 2006 Dec. – Vol. 1091. – P. 490–500.
16. Участие генов *mdr1a*, *mdr1b*, *p53* и *bcl-2* в формировании

- устойчивости клеток лимфосаркомы RLS мышей к терапевтическому действию циклофосфана / Е. М. Андреева [и др.] // Вестн. НГУ. Сер. Биология, клин. медицина. – 2006. – Т. 4, вып. 1. – С. 21–26.
17. Введение в химиотерапию злокачественных опухолей / М. Л. Гершанович [и др.]. – СПб. : Социс, 1999. – 143 с.
 18. CHOP-like chemotherapy plus rituximab versus CHOP-like chemotherapy alone in young patients with good prognosis diffuse large-B-cell lymphoma : a randomised controlled trial by the MabThera International Trial (MInT) Group / M. Pfreundschuh [et al.] // Lancet Oncol. – 2006 May. – Vol. 7, N 5. – P. 379–391.
 19. Immunotoxin BL22 induces apoptosis in mantle cell lymphoma (MCL) cells dependent on Bcl-2 expression / C. Bogner [et al.] // Br. J. Haematol. – 2010 Jan. – Vol. 148, N 1. – P. 99–109.
 20. Экспериментальная оценка противоопухолевых препаратов в СССР и США / под ред. З. П. Софьиной [и др.]. – М. : Медицина, 1980. – 296 с.
 21. Пат. 2388064 Российская Федерация. Способ воспроизведения злокачественного процесса в эксперименте, МПК G 09 B 23/28 / Ю. С. Сидоренко, Е. М. Франциянц, Л. Д. Ткаля ; заявитель и патентообладатель Ростов. науч.-исслед. онкол. ин-т Росмедтехнологий. – № 2008133088/14 ; заявл. 11.08.08 ; опубл. 27.04.10, Бюл. № 12. – 7 с.
 22. Пат. 19417 Респ. Беларусь. Способ соно-фотодинамической терапии перевитой подкожно глиомы C6 у крысы, МПК А 61 N 5/067, А 61 N 7/00 / Ю. П. Истомин, Е. Н. Александрова, В. Н. Чалов, Д. А. Церковский ; заявитель и патентообладатель Респ. науч.-практ. центр онкологии и мед. радиологии им. Н. Н. Александрова. – № a20120970 ; заявл. 27.06.12 ; опубл. 28.02.14.
 23. Фадеева, Е. В. Экспериментальная модель меланомы B16 и методы иммунотерапии / Е. В. Фадеева // Междунар. журн. эксперим. образования. – 2010. – № 8. – С. 49–50.
 24. Single-chain antibody-based immunotoxins targeting Her2/neu: design optimization and impact of affinity on antitumor efficacy and off-target toxicity / Y. Cao [et al.] // Mol. Cancer. Ther. – 2012 Jan. – Vol. 11, N 1. – P. 143–153.
 25. Choudhary, S. Therapeutic potential of anticancer immunotoxins / S. Choudhary, M. Mathew, R. S. Verma // Drug. Discov. Today. – 2011 Jun. – Vol. 16, N 11/12. – P. 495–503.
 26. Сенькова, А. В. Структурные изменения в опухоли и печени мышей при нарастании множественной лекарственной устойчивости перевиваемой лимфосаркомы RLS40 в условиях полихимиотерапии : дис. ... канд. мед. наук : 14.03.02 / А. В. Сенькова. – Новосибирск, 2010. – 140 с.
 27. Christensen, J. Non-Invasive In Vivo Imaging and Quantification of Tumor Growth and Metastasis in Rats Using Cells Expressing Far-Red Fluorescence Protein / J. Christensen, D. Vonwil, V. P. Shastri // PLoS One. – 2015 Jul. – Vol. 10, N 7. – P. e0132725.
 28. Киреева, Г. С. Внутривенное химиоперфузионное лечение диссеминированного рака яичника в эксперименте : дис. ... канд. биол. наук : 14.01.12 / Г. С. Киреева. – СПб., 2015. – 124 с.
 29. Non-invasive intravital imaging of cellular differentiation with a bright red-excitable fluorescent protein / J. Chu [et al.] // Nat. Methods. – 2014 May. – Vol. 11, N 5. – P. 572–578.
 30. Intratumor heterogeneity: nature and biological significance / T. S. Gerashchenko [et al.] // Biochemistry (Mosc.). – 2013 Nov. – Vol. 78, N 11. – P. 1201–1215.
 31. Способ моделирования лимфогенного и гематогенного метастазирования мышинной меланомы B16 у крыс / О. И. Кит [и др.] // Бюл. эксперим. биологии и медицины. – 2017. – Т. 163, № 6. – С. 759–762.
 32. Изучение эффективности новой фармацевтической композиции дииндолметана в отношении подавления ксенотрансплантатов опухолей эндометрия [Электронный ресурс] / В. И. Киселев [и др.] // Медицина и образование в Сибири. – 2014. – № 5. – Режим доступа: <https://cyberleninka.ru/article/n/izuchenie-effektivnosti-novoy-farmatsevticheskoy-kompozitsii-diindolimetana-v-otnoshenii-podavleniya-ksenograftov-opuholey>. – Дата доступа: 19.11.2018.
 33. Соколова, Е. А. Флуоресцирующая модель HER2-гиперэкспрессирующей опухоли яичника человека и ее использование для оценки эффективности таргетного иммунотоксина на основе экзотоксина А : дис. ... канд. биол. наук : 03.01.02 / Е. А. Соколова. – М., 2016. – 134 с.

Поступила 03.05.2018 г.

Принята в печать 29.11.2018 г.

References

1. Timofeevskiy AD, red. Models and methods of experimental Oncology: prakt posobie. Moscow, RF: Medgiz; 1960. 246 p. (In Russ.)
2. Popova NA. Models of experimental Oncology. Sorosov Obshcheobrazovat Zhurn. 2000;6(8):33-8. (In Russ.)
3. Oncology news. Alloncology.com: [sait]. Moscow, RF; 2009-2011. Rezhim dostupa: <http://alloncology.com/articles/7/5/>. Data dostupa: 30.06.2018. (In Russ.)
4. Markov AV. Spectrum of biological activity of new derivatives of glycyrrhetic acid and molecular mechanisms of their action: avtoref dis ... kand biol nauk: 03.01.04. Novosibirsk, RF; 2015. 22 p. (In Russ.)
5. Ergazina MZh, Dzhangeldina ZN, Krasnoshtanov AV, Krasnoshtanov VK. Structural changes in the thymus of laboratory rats in the development of graft and spontaneous tumors. Vestn KazNMU. 2016;(4):287-92. (In Russ.)
6. Kunts TA, Vakulin GM, Ovsyanko EV, Efremov AV. Liver of rats at advanced stages of development of carcinosarcoma Walker 256. Vestn NGU Ser Biologiya Klin Meditsina. 2011;9(vyp 2):126-9. (In Russ.)
7. Lebedinskaya OV, Kiselevskiy MV, Lebedinskaya EA, Donenko FV, Bolotova EI, Buranova TYu, i dr. Morphological features of mouse liver with metastatic tumor process. Sovremen Naukoem Tekhnologii. 2006;(5):32-3. (In Russ.)
8. Dzhadranov ES, Ergazina MZh, Dzhangeldina ZN, Krasnoshtanov AV. Structural changes in perelivnoj experimental tumors of rat lymphosarcoma after treatment with cyclophosphamide. Vestn KazNMU. 2015;(3):213-5. (In Russ.)
9. Korochkin RB, Verbitskiy AA, Aleshkevich VN, Sandul AV. Cultivation of viruses in cell cultures: ucheb-metod posobie. Vitebsk, RB: VGAVM; 2010. 43 p. (In Russ.)
10. Tillmann T, Kamino K, Mohr U. Incidence and spectrum of spontaneous neoplasms in male and female CBA/J mice. Exp

- Toxicol Pathol. 2000 Jun;52(3):221-5. doi: 10.1016/S0940-2993(00)80032-9
11. Reshetov IV, Daykhes NA, Karkishchenko NN, Strel'tsova EA, Stepanov SO, Semenov KhKh, i dr. Experimental model of head and neck tumor for potential targeted therapy. *Sib Onkol Zhurn.* 2009;(5):43-8. (In Russ.)
12. Gol'dberg VE, Matyash MG. Modern achievements of drug therapy of malignant neoplasms. *Biul SO RAMN.* 2004;(2):36-40. (In Russ.)
13. Kaledin VI, Popova HA, Andreeva EM. Study of the effectiveness of mono-and polychemotherapy on the model of mouse lymphosarcoma, insensitive to the induction of apoptosis. *Vopr Onkologii.* 2006;52(1):70-3. (In Russ.)
14. Kaledin VI, Nikolin VP, Ageeva TA, Timofeeva OA, Filipenko ML, Ronichevskaia GM, i dr. Cyclophosphamide induced apoptosis of murine lymphosarcoma cells in vivo. *Vopr Onkologii.* 2000;46(5):588-93. (In Russ.)
15. Mironova N, Shklyayeva O, Andreeva E, Popova N, Kaledin V, Nikolin V, et al. Animal model of drug-resistant tumor progression. *Ann N Y Acad Sci.* 2006 Dec;1091:490-500. doi: 10.1196/annals.1378.090
16. Andreeva EM, Mironova NL, Shklyayeva OA, Popova NA, Zenkova MA. Participation of genes *mdr1*, *mrp1*, *p53* and *bcl-2* in the formation of resistance of mouse lymphosarcoma LS cells to the therapeutic action of cyclophosphane. *Vestn NGU Ser Biologiya Klin Meditsina.* 2006;4(vyp 1):21-6. (In Russ.)
17. Gershanovich ML, Filov VA, Akimov MA, Akimov AA. Introduction to chemotherapy of malignant tumors. Saint-Petersburg, RF: Sotsis; 1999. 143 p. (In Russ.)
18. Pfreundschuh M, Trümper L, Osterborg A, Pettengell R, Trnieny M, Imrie K, et al. CHOP-like chemotherapy plus rituximab versus CHOP-like chemotherapy alone in young patients with good prognosis diffuse large-B-cell lymphoma: a randomised controlled trial by the MabThera International Trial (MInT) Group. *Lancet Oncol.* 2006 May;7(5):379-91. doi: 10.1016/S1470-2045(06)70664-7
19. Bogner C, Dechow T, Ringshausen I, Wagner M, Oelsner M, Lutzny G, et al. Immunotoxin BL22 induces apoptosis in mantle cell lymphoma (MCL) cells dependent on Bcl-2 expression. *Br J Haematol.* 2010 Jan;148(1):99-109. doi: 10.1111/j.1365-2141.2009.07939.x
20. Sof'ina 3P, Syrkn AB, Goldin A, Klyayn A, red. Experimental evaluation of anticancer drugs in the USSR and the USA. Moscow, RF: Meditsina; 1980. 296 p. (In Russ.)
21. Sidorenko YuS, Frantsiyants EM, Tkalya LD; zaiavitel' i patentoobladatel' Rostov nauch-issled onkol in-t Rosmedtekhologii. Pat 2388064 Rossiiskaia Federatsiia, MPK G 09 B 23/28. The method of playing a malignant process in the experiment. № 2008133088/14; zaiavl 11.08.08; opubl 27.04.10, Biul № 12. 7 p. (In Russ.)
22. Istomin YuP, Aleksandrova EN, Chalov VN, Tserkovskiy DA; zaiavitel' i patentoobladatel' Resp nauch-prakt tsentr onkologii i med radiologii im NN Aleksandrova. Pat 19417 Resp Belarus'. Method of sono-photodynamic therapy of subcutaneous C6 glioma in rats, MPK A 61 N 5/067, A 61 N 7/00. № a20120970; zaiavl 27.06.12; opubl 28.02.14. (In Russ.)
23. Fadeeva EV. Experimental model of melanoma B16 and immunotherapy methods. *Mezhdunar Zhurn Eksperim Obrazovaniia.* 2010;(8):49-50. (In Russ.)
24. Cao Y, Marks JD, Huang Q, Rudnick SI, Xiong C, Hittelman WN, et al. Single-chain antibody-based immunotoxins targeting Her2/neu: design optimization and impact of affinity on antitumor efficacy and off-target toxicity. *Mol Cancer Ther.* 2012 Jan;11(1):143-53. doi: 10.1158/1535-7163.MCT-11-0519
25. Choudhary S, Mathew M, Verma RS. Therapeutic potential of anticancer immunotoxins. *Drug Discov Today.* 2011 Jun;16(11-12):495-503. doi: 10.1016/j.drudis.2011.04.003
26. Sen'kova AV. Structural changes in the tumor and liver of mice with the increase of multiple drug resistance of transplanted lymphosarcoma RLS40 under polychemotherapy: dis ... kand med nauk: 14.03.02. Novosibirsk, RF; 2010. 140 p. (In Russ.)
27. Christensen J, Vonwil D, Shastri VP. Non-Invasive In Vivo Imaging and Quantification of Tumor Growth and Metastasis in Rats Using Cells Expressing Far-Red Fluorescence Protein. *PLoS One.* 2015 Jul 17;10(7):e0132725. doi: 10.1371/journal.pone.0132725
28. Kireeva GS. Intraperitoneal chemoperfusion treatment of disseminated ovarian cancer in experiment: dis ... kand biol nauk: 14.01.12. Saint-Petersburg, RF; 2015. 124 p. (In Russ.)
29. Chu J, Haynes RD, Corbel SY, Li P, González-González E, Burg JS, et al. Non-invasive intravital imaging of cellular differentiation with a bright red-excitable fluorescent protein. *Nat Methods.* 2014 May;11(5):572-8. doi: 10.1038/nmeth.2888
30. Gerashchenko TS, Denisov EV, Litviakov NV, Zavyalova MV, Vtorushin SV, Tsyganov MM, et al. Intratumor heterogeneity: nature and biological significance. *Biochemistry (Mosc).* 2013 Nov;78(11):1201-15. doi: 10.1134/S0006297913110011
31. Kit OI, Kaplieva IV, Frantsiyants EM, Trepitaki LK. Method for modeling lymphogenic and hematogenous metastasis of murine melanoma B16 in rats. *Biul Eksperim Biologii Meditsiny.* 2017;163(6):759-62. (In Russ.)
32. Kiselev VI, Drukh VM, Kuznetsov IN, Muzyzhnek EL, Pchelintseva OI. A study of the effectiveness of the new pharmaceutical compositions diindolylmethane regarding suppression of xenograft tumors of the endometrium [Elektronnyi resurs]. *Meditsina i obrazovanie v Sibiri.* 2014;(5). Rezhim dostupa: <https://cyberleninka.ru/article/n/izuchenie-effektivnosti-novoy-farmatsevticheskoy-kompozitsii-diindolilmetana-v-otnoshenii-podavleniya-ksenograftov-opuholey>. Data dostupa: 19.11.2018. (In Russ.)
33. Sokolova EA. The fluorescent model of HER2-hyperexpression tumors human ovaries and its use to assess the effectiveness of targeted immunotoxin on the basis of exotoxin A: dis ... kand biol nauk: 03.01.02. Moscow, RF; 2016. 134 p. (In Russ.)

Submitted 03.05.2018

Accepted 29.11.2018

Сведения об авторах:

Побяржин В.В. – к.б.н., доцент, докторант кафедры инфекционных болезней, Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет;

Пашинская Е.С. – к.б.н., доцент, докторант кафедры инфекционных болезней, Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет;

Семенов В.М. – д.м.н., профессор, заведующий кафедрой инфекционных болезней, Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет;

Гончаров А. Е. – к.м.н., заведующий лабораторией иммунологии и клеточной биотехнологии, Республиканский научно-практический центр эпидемиологии и микробиологии.

Information about authors:

Pabiarzhyn V.V. – Candidate of Biological Sciences, associate professor, doctoral candidate of the Chair of Infectious Diseases, Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University;

Pashinskaya E.S. – Candidate of Biological Sciences, associate professor, doctoral candidate of the Chair of Infectious Diseases, Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University;

Semenov V.M. – Doctor of Medical Sciences, professor, head of the Chair of Infectious Diseases, Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University;

Hancharou A.Y. – Candidate of Medical Sciences, head of the Immunology and Cell Biotechnology Laboratory, Republican Practical-Scientific Centre of Epidemiology & Microbiology.

Адрес для корреспонденции: Республика Беларусь, 210009, г. Витебск, пр. Фрунзе, 27, Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет, кафедра инфекционных болезней. E-mail: tulovo22@rambler.ru – Побяржин Вячеслав Войтехович.

Correspondence address: Republic of Belarus, 210009, Vitebsk, 27 Frunze ave., Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University, Chair of Infectious Diseases. E-mail: tulovo22@rambler.ru – Vyacheslav V. Pobyarzhin.

ИЗМЕНЕНИЕ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ ПЕЧЕНИ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ РАСПРОСТРАНЕННОМ ГНОЙНОМ ПЕРИТОНИТЕ НА ФОНЕ ПРИМЕНЕНИЯ ЭНЕРГОТРОПНОЙ КОРРЕКЦИИ

ЯРОЦКАЯ Н.Н., КОСИНЕЦ В.А., КОРОЛЬКОВА Н.К.

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

Вестник ВГМУ. – 2018. – Том 17, №6. – С. 46-54.

CHANGES IN THE FUNCTIONAL ACTIVITY OF THE LIVER IN EXPERIMENTAL GENERALIZED PURULENT PERITONITIS WITH THE APPLICATION OF ENERGETROPIC CORRECTION

YAROTSKAYA N.N., KOSINETS V.A., KARALKOVA N.K.

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

Vestnik VGMU. 2018;17(6):46-54.

Резюме.

Цель исследования – изучить влияние энерготропных препаратов на функциональную активность печени при экспериментальном распространенном гнойном перитоните.

Материалы и методы. Эксперимент выполнен на 59 кроликах. Гнойный перитонит моделировали путем интраабдоминального введения аэробно-анаэробной смеси *E.coli* и *B.fragilis*. Через 6 часов после инициации перитонита выполняли хирургическое лечение с использованием в течение 5-ти суток в послеоперационном периоде метаболитических препаратов – цитофлавина, содержащего янтарную кислоту, никотинамида, рибоксина и рибофлавина или неотона, содержащего креатинфосфат. Животных выводили из эксперимента через 6-часов после инициации перитонита, а также на 1-е, 3-е, 5-е сутки после операции. Функциональную активность оценивали по показателям интенсивности свободно-радикального окисления, активности ферментов, продуктов углеводного обмена в гомогенатах печени.

Результаты. Полученные данные свидетельствовали о развитии в печени при экспериментальном распространенном гнойном перитоните метаболитических нарушений, о чем свидетельствовало изменение про-/антиоксидантного равновесия, уровня индикаторных, экскреторных, лизосомальных ферментов и их субстратов. Применение препаратов энерготропного действия позволило снизить негативный эффект действия бактериальных токсинов в послеоперационном периоде, оказываемый на функциональное состояние печени, в сравнении с контрольной группой животных, не получавших энерготропной поддержки.

Заключение. Инициация экспериментального гнойного перитонита уже через 6 часов приводит к развитию метаболитических нарушений в печени с нарастанием процессов свободнорадикального окисления и угнетением факторов антиоксидантной системы, что указывает на повреждение мембранных структур гепатоцитов. Применение в послеоперационном периоде препаратов энерготропного действия способствует повышению мощности антиокислительной системы, что сопровождается снижением выраженности цитолитических и деструктивных процессов в паренхиме печени.

Ключевые слова: экспериментальный распространенный гнойный перитонит, кролики, печень, энерготропные препараты.

Abstract.

Objectives. To estimate the effect of energetropic drugs on the functional activity of the liver in experimental generalized purulent peritonitis.

Material and methods. The experiment was performed on 59 rabbits. Purulent peritonitis was modelled by means of

intra-abdominal administration of an aerobic-anaerobic mixture of *E. coli* and *B. fragilis*. In 6 hours after the initiation of peritonitis, surgical treatment was performed with the use of metabolic drugs Cytoflavin containing succinic acid, nicotinamide, Riboxin and Riboflavin or Neotone containing creatine phosphate during 5 days in the postoperative period. The animals were taken out of the experiment in 6 hours after the initiation of peritonitis, as well as on the 1st, 3rd, 5th day after the operation. Functional activity was assessed by the indices of the intensity of free-radical oxidation, enzyme activity, and carbohydrate metabolism products in liver homogenates.

Results. The obtained data testified to the development of the liver metabolic disorders in experimental generalized purulent peritonitis, as evidenced by the change in pro/antioxidant balance, the level of indicator, excretory, lysosomal enzymes and their substrates. The use of drugs possessing energotropic action allowed to reduce the negative effect of bacterial toxins in the postoperative period, exerted on the functional state of the liver in comparison with the control group of animals that did not receive any energotropic support.

Conclusions. The initiation of experimental purulent peritonitis already in 6 hours leads to the development of metabolic disorders in the liver with an increase in free radical oxidation processes and inhibition of antioxidant system factors, which indicates the damage to the hepatocytes membrane structures. The use of the energotropic action preparations in the postoperative period contributes to an increase of the antioxidant system power, which is accompanied by a decrease in the severity of cytolytic and destructive processes in the liver parenchyma.

Key words: experimental generalized purulent peritonitis, rabbits, liver, energotropic drugs.

Печень – самая крупная железа в человеческом организме, которая играет важную роль в метаболических и иммунологических реакциях. Расстройство системы детоксикации является ранним механизмом развития печеночной дисфункции и фактором риска для неблагоприятного исхода, приводящего к развитию полиорганной недостаточности [1]. Массивная гибель гепатоцитов является основным процессом, предшествующим развитию печеночной недостаточности, который характеризуется преобладанием скорости и степени гепатоцеллюлярной смерти над регенеративными способностями печени [2]. Основной патологический процесс при поражении печени эндотоксинами разворачивается на клеточном и молекулярном уровнях и связан с изменениями свойств мембранных и цитоплазматических структур гепатоцитов [3, 4].

Выраженность нарушения функционального состояния гепатоцитов характеризуется изменениями про-/антиоксидантного равновесия, уровня индикаторных, экскреторных, лизосомальных ферментов и их субстратов. Активация процесса свободнорадикального окисления в печени приводит к разрушению мембран, высвобождению ферментов, распаду белков с последующей гибелью клетки [5, 6]. Возрастание мощности антиокислительной системы способно снизить токсический эффект действия бактериальных токсинов при перитоните и повысить детоксикационную функцию печени [7, 8].

В этой связи большой интерес представляет возможность использования известных препара-

тов с энерготропными свойствами на функциональное состояние печени в послеоперационном периоде гнойного перитонита.

Цель исследования – изучить влияние энерготропных препаратов на функциональную активность печени при экспериментальном распространенном гнойном перитоните.

Материал и методы

Эксперимент проведен на 59 кроликах-самцах породы шиншилла массой 2,6-3,0 кг. Животные были распределены по следующим группам: I – интактные (n=7); II – 6-часовой распространенный гнойный перитонит без хирургического лечения (n=7); III – контрольная, хирургическое лечение перитонита (n=15); IV – хирургическое лечение перитонита с применением в послеоперационном периоде препарата «Неотон» в течение 5-ти суток (n=15); V – хирургическое лечение перитонита с применением в послеоперационном периоде препарата «Цитофлавин» в течение 5-ти суток (n=15).

Моделирование гнойного перитонита осуществляли путем введения животным через переднюю брюшную стенку в брюшинную полость 6 млн/кг микробных тел аэробно-анаэробной взвеси, состоящей из равного количества микроорганизмов *E. Coli* и *B. Fragilis*. Через 6 часов после введения микроорганизмов в III-ей, IV-ой и V-ой группах животных с целью лечения перитонита и устранения энтеральной недостаточности выполняли лапаротомию, санацию брюшной

полости, декомпрессию тонкой кишки. Животные IV-ой и V-ой групп получали внутривенно капельно препараты «Неотон» (0,05 г фосфокреатина в 100 мл 0,9%-го раствора натрия хлорида из расчета 10 мл/кг в/в) и «Цитофлавин» (2,0 г янтарной кислоты, 0,10 г никотинамида, 0,20 г рибоксина, 0,02 г рибофлавина в 100 мл 0,9%-го раствора натрия хлорида из расчета 10 мл/кг в/в) соответственно, животные III-ей группы – эквивалентный объем 0,9%-го раствора натрия хлорида.

Оба использованных лекарственных средства являются препаратами метаболического действия с энерготропными свойствами. Неотон – метаболическое средство, содержащее креатинфосфат. Оно выполняет роль резерва химической энергии и используется для быстрого ресинтеза АТФ. Цитофлавин – препарат комплексного метаболического действия, содержащий янтарную кислоту, никотинамид, рибоксин и рибофлавин. Данный препарат стимулирует процессы клеточного дыхания, а также обладает детоксицирующим, антигипоксическим и антиоксидантным свойствами.

Работу с экспериментальными животными проводили согласно международным нормам биоэтики в лабораторном животноводстве.

Животных с распространенным гнойным перитонитом выводили из эксперимента (летальная доза пентобарбитала) через 6 часов после заражения, животных III-ей, IV-ой и V-ой групп – на 1-е, 3-и и 5-е сутки после операции.

Материалом для биохимического исследования служили фрагменты печени, из которых готовили гомогенаты. Для получения гомогената навеску сырой ткани печени измельчали и промывали в 0,9% физиологическом растворе для удаления остатков крови. Затем кусочки печени помещали в гомогенизатор Поттера-Эвельгейма (стекло-тефлон), добавляли буферный раствор (0,05 М фосфатный буфер, pH 7,4) и гомогенизировали до получения однородного гомогената. Полученный гомогенат центрифугировали при 3000 обр/мин, полученный супернатант фильтровали через несколько слоев марли, переносили в отдельную пробирку и использовали для определения. При изучении активности супероксиддисмутазы и кислой фосфатазы гомогенаты готовили, используя 0,9% физиологический раствор.

Функциональную активность печени оценивали по биохимическим показателям в гомогенатах печени: содержания глюкозы, лактата,

активности ферментов (щелочной фосфатазы – ЩФ, кислой фосфатазы – КФ, лактатдегидрогеназы – ЛДГ, супероксиддисмутазы – СОД, каталазы – КАТ) с использованием диагностических наборов. Оценку интенсивности свободнорадикального окисления проводили с использованием метода индуцированной хемилюминесценции на биохемилюменометре БХЛ-06 по показателям S, I_{max}, S/(I_{max}*t).

Статистическая обработка результатов проводилась с помощью стандартного пакета статистических программ «STATISTICA 10.0» и «MS Excel». Величины анализируемых показателей в группах представляли в виде медианы (Me) и интерквартильного интервала [25%; 75%]. Для оценки достоверности различий использовали непараметрический U-тест Манна-Уитни с учетом поправки Бонферрони либо дисперсионный анализ Крускала-Уоллиса (Kruskal-Wallis ANOVA) в независимых выборках, в зависимых – W-критерий Уилкоксона. Различия принимались за достоверные при $p < 0,05$.

Результаты

Согласно полученным данным, в гомогенатах печени животных уже через 6 часов после инициации перитонита в сравнении с интактной группой увеличивались показатели интенсивности хемилюминесценции, характеризующие процессы свободнорадикального окисления: S – в 1,2 раза ($p < 0,015$), I_{max} – в 1,7 раза ($p < 0,002$), показатель антиоксидантной защиты, напротив, снижался в 1,4 раза ($p < 0,004$) (табл. 1). Нарастала активность ферментов: КАТ – в 3,9 раза ($p < 0,002$), ЛДГ – в 1,5 раза ($p < 0,002$), КФ – в 1,7 раза ($p < 0,002$), содержание уровня лактата – в 1,5 раза ($p < 0,002$). При этом снижалась ферментативная активность ЩФ в 1,1 раза ($p < 0,002$) и СОД в 1,1 раза ($p < 0,034$). Содержание глюкозы снижалось в 1,4 раза ($p < 0,004$) (табл. 2).

На 1-сутки после операции в контрольной группе показатели интенсивности свободнорадикального окисления S и I_{max} в сравнении с группой 6-часового перитонита незначительно нарастали ($p = 0,626$; $p = 0,074$ соответственно), показатель, характеризующий АОА (антиоксидантная активность), снижался ($p = 0,193$). Определение активности ферментов показало нарастание ЛДГ в 7,8 раза ($p < 0,005$). При этом активность СОД, КАТ, ЩФ, КФ статистически значимо снижалась в 2,0, 7,6, 1,1 и 1,2 раза соответственно

Таблица 1 – Динамика показателей индуцированной хемилюминесценции в гомогенатах печени при экспериментальном распространенном гнойном перитоните на фоне применения энерготропной коррекции

Группа		Показатель	Imax, мВ	S, мВ*сек	S/(Imax*t), относит. ед.
Норма (n=7)		Медиана	0,68	6,15	0,289
		Min-Max	0,64-0,76	5,24-6,57	0,239-0,313
6-часовой перитонит (n=7)		Медиана	1,15 p1<0,002	7,16 p1<0,015	0,212 p1<0,004
		Min-Max	0,95-1,25	6,08-8,05	0,167-0,275
Контрольная (n=15)	1 сутки	Медиана	1,24 p1<0,005 p2=0,074	7,31 p1<0,009 p2=0,626	0,178 p1<0,005 p2=0,193
		Min-Max	1,11-1,50	6,37-8,33	0,165-0,223
	3 сутки	Медиана	1,12 p3=0,224	5,79 p3<0,043	0,173 p3=0,345
		Min-Max	1,07-1,28	4,94-6,23	0,129-0,188
	5 сутки	Медиана	1,07 p1<0,005	8,51 p1<0,005	0,239 p1=0,329
		Min-Max	0,95-1,21	7,65-9,48	0,238-0,300
С применением неотона (n=15)	1 сутки	Медиана	0,88 p1<0,005 p4<0,012	5,81 p1=1,0 p4=0,036	0,224 p1<0,002 p4=0,094
		Min-Max	0,78-1,09	5,36-6,52	0,169-0,277
	3 сутки	Медиана	0,96 p3<0,043 p4=0,036	6,41 p3=0,224 p4=0,060	0,227 p3=0,892 p4<0,012
		Min-Max	0,94-1,10	5,65-7,34	0,188-0,225
	5 сутки	Медиана	0,85 p1<0,007 p4=0,021	7,05 p1<0,005 p4<0,012	0,262 p1=0,626 p4=0,403
		Min-Max	0,76-0,97	6,66-7,51	0,241-0,329
С применением цитофлавина (n=15)	1 сутки	Медиана	1,16 p1<0,005 p4=0,143 p5=0,036	6,08 p1=0,745 p4<0,012 p5=0,036	0,170 p1<0,005 p4=0,403 p5=0,060
		Min-Max	1,04-1,30	5,66-6,34	0,163-0,190
	3 сутки	Медиана	0,98 p3<0,043 p4=0,055	6,34 p3=0,500 p4=0,170	0,205 p3<0,043 p4<0,001
		Min-Max	0,86-1,12	5,16-6,67	0,186-0,251
	5 сутки	Медиана	0,85 p1<0,003 p4<0,007 p5=0,021	6,34 p1=0,390 p4<0,008 p5<0,008	0,251 p1<0,018 p4=0,648 p5=0,082
		Min-Max	0,78-0,90	5,74-6,44	0,223-0,261

Примечание: p1 – по сравнению с нормой; p2 – по сравнению с группой 6-часового перитонита; p3 – по сравнению с предыдущими сроками аналогичной группы; p4 – по сравнению с контрольной группой аналогичных суток; p5 – по сравнению с препаратом «Неотон» аналогичных суток. Значения p при поиске парных различий приведены с учетом поправки Бонферрони.

(p<0,005; p<0,005; p<0,009; p=0,034). Содержание глюкозы и лактата снижалось в 1,1 и 1,6 раза соответственно (p=0,034, p<0,005).

Применение препарата «Неотон» на 1-сутки после операции продемонстрировало нарастающие процессы свободнорадикального окисления

Таблица 2 – Динамика изменения содержания биохимических показателей в гомогенатах печени при экспериментальном распространенном гнойном перитоните на фоне применения энерготропной коррекции

Группа	Показатель	СОД, Ед/г ткани	КАТ, нкат/г ткани	Глюкоза, моль/г ткани	ЩФ, нкат/г ткани	КФ, нкат/г ткани	ЛДП, нкат/г ткани	Лактат, ммоль/г ткани
Интактная (n=7)	Медиана	131,69	12,88	0,137	58,81	23,77	10,66	1,61
	25% -75%	129,79-143,80	11,99-13,99	0,125-0,149	56,51-62,60	23,17-25,06	10,47-11,66	1,48-1,69
	Медиана	117,16	50,63	0,096	51,64	40,51	16,20	2,36
	25% -75%	101,78-124,43	43,96-54,40	p1<0,004	p1<0,002	p1<0,002	p1<0,002	p1<0,002
6-часовой гнойный перитонит (n=7)	Медиана	55,09	6,66	0,086	45,24	33,84	126,08	1,43
	25% -75%	p1<0,005	p1<0,005	p1<0,005	p1<0,005	p1<0,005	p1<0,005	p1<0,031
	Медиана	21,68	7,99	0,079	56,03	24,14	96,37	1,39
	25% -75%	p3<0,043	p3<0,224	p3<0,079	p3<0,043	p3<0,043	p3<0,067	p3<0,465
Контрольная (n=15)	Медиана	18,96-24,64	7,22-9,77	0,101-0,129	54,67-57,53	24,10-27,84	93,94-102,74	1,39-1,44
	25% -75%	64,92	10,66	0,122	64,88	28,74	6,43	1,39
	Медиана	p1<0,057	p1<0,014	p1<0,073	p1<0,029	p1<0,034	p1<0,002	p1<0,014
	25% -75%	61,31-64,92	9,77-11,32	0,119-0,124	62,96-66,63	28,04-28,77	6,13-7,26	1,31-1,44
С применением неотона (n=15)	Медиана	116,10	13,77	0,090	56,88	34,87	99,65	1,39
	25% -75%	p1<0,034	p1<0,681	p1<0,005	p1<0,329	p1<0,005	p1<0,005	p1<0,118
	Медиана	p4<0,011	p4<0,011	p4<0,530	p4<0,012	p4<0,676	p4<0,021	p4<0,519
	25% -75%	110,24-121,27	13,32-13,77	0,084-0,093	52,08-59,15	33,74-36,77	91,67-104,49	1,31-1,43
С применением цитоплафина (n=15)	Медиана	98,35	8,44	0,120	52,98	32,11	58,33	1,39
	25% -75%	p3<0,043	p3<0,043	p3<0,043	p3<0,224	p3<0,079	p3<0,043	p3<0,685
	Медиана	p4<0,012	p4<0,012	0,163	63,21	33,21	12,35	1,43
	25% -75%	94,88-101,68	7,55-9,33	0,115-0,125	52,66-55,43	30,47-33,84	54,48-81,23	1,20-1,50
С применением цитоплафина (n=15)	Медиана	108,94	13,77	p1<0,05	p1<0,416	p1<0,005	p1<0,329	1,46
	25% -75%	p1<0,005	p1<0,011	p4<0,012	p4<0,255	p4<0,021	p4<0,005	p1<0,058
	Медиана	p4<0,012	p4<0,012	p5<0,012	p5<0,012	p5<0,012	p5<0,094	p4<0,246
	25% -75%	92,26-108,94	13,22-14,21	0,155-0,167	59,11-63,78	31,74-35,04	11,52-12,55	1,39-1,46
С применением цитоплафина (n=15)	Медиана	75,42	18,21	0,130	26,49	26,27	114,94	1,46
	25% -75%	p1<0,005	p1<0,011	p1<0,807	p1<0,005	p1<0,254	p1<0,005	p1<0,139
	Медиана	p4<0,015	p4<0,012	p4<0,012	p4<0,012	p4<0,012	p4<0,094	p4<0,594
	25% -75%	p5<0,012	p5<0,021	p5<0,120	p5<0,055	p5<0,021	p5<0,055	p5<0,595
С применением цитоплафина (n=15)	Медиана	68,95-81,31	16,43-18,65	0,125-0,137	26,06-26,56	25,74-28,01	108,81-120,54	1,39-1,58
	25% -75%	92,26	30,42	0,134	43,24	29,01	74,75	1,56
	Медиана	p3<0,043	p3<0,043	p3<0,892	p3<0,012	p3<0,012	p3<0,094	p3<0,595
	25% -75%	p4<0,012	p4<0,004	p4<0,173	p4<0,045	p4<0,094	p4<0,229	p4<0,124
С применением цитоплафина (n=15)	Медиана	p5<0,296	p5<0,007	p5<0,120	p5<0,055	p5<0,021	p5<0,055	p5<0,099
	25% -75%	86,38-95,73	26,42-33,75	0,127-0,141	40,83-47,09	28,17-29,51	70,86-82,17	1,45-1,60
	Медиана	102,55	18,65	0,152	35,72	23,89	11,28	1,28
	25% -75%	p1<0,026	p1<0,014	p1<0,179	p1<0,002	p1<0,667	p1<0,798	p1<0,006
С применением цитоплафина (n=15)	Медиана	p4<0,008	p4<0,002	p4<0,021	p4<0,002	p4<0,082	p4<0,007	p4<0,604
	25% -75%	p5=1,0	p5<0,060	p5<0,329	p5<0,005	p5<0,008	p5<0,329	p5<0,118
	Медиана	99,04-104,90	14,21-18,65	0,148-0,164	29,91-36,29	23,37-26,96	11,02-12,17	1,26-1,41
	25% -75%							

Примечание: p1 - по сравнению с нормой; p2 – по сравнению с группой 6-часового перитонита; p3 – по сравнению с предыдущими сроками аналогичной группы; p4 – по сравнению с контрольной группой аналогичных суток; p5 – по сравнению с препаратом «Неотон» аналогичных суток. Значения p при поиске парных различий приведены с учетом поправки Бонферрони.

и снижение антиоксидантной активности, на что указывали показатели системы ПОЛ (S , I_{\max}) и АОА ($p=1,0$, $p<0,005$, $p<0,002$) в сравнении с интактной группой. При этом активность антиоксидантных ферментов СОД снижалась в 1,1 раза ($p<0,034$), а КАТ повышалась в 1,1 раза ($p<0,005$). Активность ЛДГ и КФ увеличивалась в 9,3 и 1,5 раза соответственно ($p<0,005$; $p=0,034$), а ЩФ незначительно снижалась ($p=0,104$). Содержание глюкозы и лактата снижалось в 1,5 и 1,2 раза соответственно ($p=0,051$; $p<0,005$).

Динамика состояния оксидантно-антиоксидантной системы на 1-сутки после операции при применении цитофлавина была аналогичной при применении неотона. Показатель I_{\max} увеличивался в 1,7 раза ($p<0,005$), а показатель, характеризующий АОА, снижался в 1,7 раза ($p<0,005$) в сравнении с интактной группой. Оценка ферментативной активности продемонстрировала снижение активности СОД и ЩФ в 1,7 и 2,2 раза соответственно ($p<0,005$; $p<0,005$), увеличение активности КАТ в 1,4 раза ($p<0,011$), ЛДГ в 10 раз ($p<0,005$), КФ в 1,1 раза ($p=0,254$). Содержание глюкозы и лактата статистически не отличалось ($p=0,807$, $p=0,139$).

На 3-сутки после операции в контрольной группе в сравнении с 1-сутками отмечалась незначительное снижение интенсификации свободно-радикального окисления с падением активности антиоксидантной защиты ($p=0,224$, $p<0,043$, $p=0,345$). Данные результаты сопровождались дальнейшим снижением активности СОД в 2,5 раза ($p<0,043$), нарастанием активности КАТ в 1,2 раза ($p=0,224$), ЩФ в 1,2 раза ($p<0,043$), снижением активности ЛДГ в 1,3 раза ($p=0,067$), КФ в 1,4 раза ($p=0,465$). Увеличивалось содержание глюкозы в 1,4 раза ($p=0,079$).

На фоне применения лекарственного средства «Неотон» на 3 сутки после операции в сравнении с 1 сутками нарастало образование свободных радикалов в гомогенатах печени, о чем свидетельствовало увеличение показателей S в 1,1 раза ($p=0,224$), I_{\max} в 1,1 раза ($p<0,043$). При этом показатель, характеризующий состояние антиоксидантной системы, статистических отличий от такового в 1 сутки не имел ($p=0,892$). Активность основных антиоксидантных ферментов в сравнении с 1 сутками (СОД, КАТ) снижалась в 1,2 и 1,6 раза соответственно ($p<0,043$; $p<0,043$). Также снижалась активность ЛДГ в 1,7 раза ($p<0,043$), ЩФ в 1,1 раза ($p=0,224$), КФ в 1,1 раза ($p=0,079$). Нарастало содержание глюкозы в 1,3

раза ($p<0,043$). Уровень лактата статистических отличий не имел ($p=0,685$).

Применение «Цитофлавина» на 3-сутки после операции у животных продемонстрировало снижение интенсификации процессов свободно-радикального окисления и нарастание активности антиокислительной защиты в сравнении с 1-сутками. Показатель I_{\max} снижался в 1,2 раза ($p<0,043$), а показатель АОА увеличивался в 1,2 раза ($p<0,043$). Активность антиоксидантных ферментов СОД и КАТ продемонстрировала нарастание активности первой в 1,2 раза ($p<0,043$) и увеличение второй в 1,6 раза ($p<0,043$). Нарастала активность ЩФ в 1,6 раза ($p<0,012$), КФ в 1,1 раза ($p<0,012$), снижалась активность ЛДГ в 1,5 раза ($p=0,074$). Статистически значимых отличий изменения содержания уровня глюкозы и лактата обнаружено не было ($p=0,689$; $p=0,595$).

На 5-сутки после операции в контрольной группе состояние оксидантно-антиоксидантной системы статистически значимо отличалось от таковых значений в интактной группе. Показатели S и I_{\max} , характеризующие свободно-радикальное окисление, превышали значения интактной группы в 1,4 и 1,6 раза соответственно ($p<0,005$; $p<0,005$). Показатель, характеризующий состояние антиоксидантной системы, приближался к значению интактной группы, однако оставался ниже ее значений ($p=0,329$). Активность СОД и КАТ в сравнении с 3 сутками нарастала в 3,0 и 1,3 соответственно ($p<0,043$; $p=0,074$), однако по-прежнему оставалась ниже значений интактной группы ($p<0,005$; $p<0,014$). Резко снижалась активность ЛДГ в сравнении с 3 сутками в 15 раз ($p<0,001$), но при этом оставалась ниже значений интактной группы ($p<0,002$). Активность ЩФ и КФ нарастала в сравнении с интактной группой в 1,1 и 1,2 раза соответственно ($p<0,029$; $p<0,034$), содержание глюкозы статистически не отличалось ($p=0,073$). Уровень лактата оставался ниже значений интактной группы ($p<0,014$).

Показатели, характеризующие состояние ПОЛ (S , I_{\max}), на фоне применения неотона на 5-сутки после операции в сравнении с интактной группой были повышены ($p<0,005$; $p<0,003$), но оставались ниже значений, полученных в контрольной группе аналогичного срока наблюдения ($p<0,012$; $p=0,021$). Показатель, характеризующий состояние антиоксидантной системы, приближался к значениям интактной группы ($p<0,018$). Активность СОД оставалась в 1,2 раза ниже значений интактной группы ($p<0,005$), а активность

КАТ выше в 1,1 раза ($p=0,744$). Показатели активности ЛДГ снижались в сравнении с 3 сутками в 4,7 раза ($p<0,005$) и незначительно были выше значений интактной группы ($p=0,329$). Активность ЩФ и КФ оставалась выше значений интактной группы в 1,1 и 1,4 раза соответственно ($p=0,416$; $p<0,005$). Уровень глюкозы и лактата к 5 суткам после операции статистически не отличался от значений интактной группы ($p=0,051$; $p=0,058$).

На фоне применения лекарственного средства «Цитофлавин» на 5 сутки после операции интенсивность свободнорадикального окисления, характеризующаяся показателями S, I_{max}, АОА, приближалась к значениям интактной группы ($p=0,390$; $p<0,003$; $p<0,018$). Активность фермента антиоксидантной системы СОД продемонстрировала ее нарастание в сравнении с 3 сутками в 1,1 раза ($p=0,224$), однако данный показатель не достигал значения, полученного в интактной группе ($p<0,026$). Активность КАТ, напротив, снижалась в сравнении с 3 сутками в 1,6 раза ($p<0,043$), но оставалась выше в 1,4 раза значений интактной группы ($p<0,014$). В сравнении с интактной группой снижалась активность ЩФ в 1,6 раза ($p<0,002$), при этом активность ЛДГ, КФ, уровень глюкозы статистически не отличались ($p=0,798$; $p=0,667$; $p=0,179$). Уровень лактата был ниже значений интактной группы в 1,2 раза ($p<0,002$).

Обсуждение

Таким образом, развитие перитонита приводит к активации свободнорадикального окисления с угнетением факторов антиоксидантной системы уже через 6 часов после инициации заболевания, что сопровождается также увеличением активности каталазы и кислой фосфатазы и указывает на повреждение мембранных структур гепатоцитов. Увеличение активности антиоксидантного фермента каталазы, вероятно, связано с образованием в системе избыточного количества пероксида водорода и свидетельствует о развитии компенсаторно-приспособительных механизмов, направленных на защиту клеточных структур от разрушения, которое осуществляет перекись водорода.

Применение в послеоперационном периоде лекарственного средства «Неотон» способствует улучшению функционального состояния гепатоцитов уже на 1 сутки после операции по

сравнению с контрольной группой. Выявленный позитивный эффект лекарственного средства «Неотон» на функциональное состояние печени, надо полагать, связан с его защитным действием, направленным на предотвращение повреждения мембранных структур гепатоцитов при перитоните с нормализацией показателей системы ПОЛ/АОА, уровня экскреторного и индикаторного ферментов и их субстратов, что свидетельствует о восстановлении структурно-функционального состояния гепатоцитов.

Применение лекарственного средства «Цитофлавин» препятствует смещению показателей системы перекисного окисления липидов и антиоксидантной защиты в сторону превалирования ПОЛ, способствует восстановлению активности ферментов-маркеров функционального состояния печени, показателей углеводного обмена, что снижает повреждающее действие эндотоксинов при моделировании гнойного перитонита к 5 суткам послеоперационного периода, улучшая детоксикационную функцию печени.

Заключение

1. Инициация экспериментального гнойного перитонита уже через 6 часов свидетельствует об изменении функционального состояния печени со статистически значимым по сравнению с интактной группой нарастанием процессов свободнорадикального окисления ($Me=1,15$, $p<0,002$; $Me=7,16$, $p<0,015$), снижением активности антиокислительной системы ($Me=0,212$, $p<0,004$), нарастанием активности КАТ в 4,0 раза ($Me=50,63$, $p<0,002$), ЛДГ 1,5 раза ($Me=16,20$, $p<0,002$).

2. Применение в послеоперационном периоде при экспериментальном гнойном перитоните лекарственного средства, содержащего креатинфосфат, сопровождалось нормализацией в гомогенатах печени к 5 суткам после операции уровня антиоксидантной активности ($Me=0,260$, $p=0,626$), активности КАТ ($Me=13,77$, $p=0,744$), ЩФ ($Me=63,21$, $p=0,416$), ЛДГ ($Me=12,35$, $p=0,329$), содержания лактата ($Me=1,43$, $p=0,058$) в сравнении с интактной группой.

3. Использование в послеоперационном периоде при экспериментальном распространенном гнойном перитоните лекарственного средства «Цитофлавин» сопровождается восстановлением активности КФ ($Me=23,89$, $p=0,667$), ЛДГ ($Me=11,28$, $p=0,798$), уровня глюкозы ($Me=0,152$,

$p=0,179$), интенсивности свободнорадикального окисления S (Me=6,34, $p=0,390$) в сравнении с интактной группой.

4. Использование лекарственных препаратов с энерготропными свойствами Неотон и Цитофлавин оказывает положительное влияние на функциональную активность печеночной паренхимы, способствуя нивелированию метаболических нарушений с восстановлением про-/антиоксидантного равновесия, ферментативной активности, что предотвращает развитие негативных изменений в структурной целостности паренхимы печени и ее цитоплазматических компонентов уже к 5 суткам послеоперационного периода.

Литература

1. Костюченко, М. В. Современная концепция профилактики прогрессирования эндотоксикоза и нарушений функции печени и почек в неотложной хирургии / М. В. Костюченко // Междунар. журн. приклад. и фундам. исслед. – 2013. – № 9. – С. 113–114.
2. Пути повышения возможностей естественных механизмов детоксикации при остром перитоните / А. П. Вла-

сов [и др.] // Кубан. науч. мед. вестн. – 2010. – № 2. – С. 17–22.

3. Перитонит : учеб.-практ. пособие / Э. Г. Абдуллаев [и др.] ; Иван. гос. мед. акад. ; Владим. гос. ун-т им. А. Г. и Н. Г. Столетовых. – Владимир : Изд-во ВлГУ, 2014. – 144 с.
4. Biochemical mechanisms in drug-induced liver injury: certainties and doubts / I. Grattagliano [et al.] // World J. Gastroenterol. – 2009 Oct. – Vol. 15, N 39. – P. 4865–4876.
5. Звенигородская, Л. А. Перекисное окисление липидов и активность липопротеин-ассоциированной фосфолипазы A2 в сыворотке крови у больных неалкогольной жировой болезнью печени / Л. А. Звенигородская, Т. В. Нилова, А. В. Петраков // Поликлиника. – 2015. – № 5-1. – С. 48–52.
6. Kannan, N. Protective Effect of Acacia nilotica (L.) against Acetaminophen-Induced Hepatocellular Damage in Wistar Rats / N. Kannan, K. M. Sakthivel, C. Guruvayoorappan // Adv. Pharmacol. Sci. – 2013. – N 2. – P. 987692.
7. Летуновский, А. В. Метаболические изменения в печени при экспериментальном алкогольном панкреатите и их коррекция / А. В. Летуновский // Кубан. науч. мед. вестн. – 2011. – № 6. – С. 90–94.
8. Сирота, Т. В. Активность цитоплазматической супероксиддисмутазы –чувствительный показатель состояния антиоксидантной системы печени и мозга крыс / Т. В. Сирота, М. В. Захарченко, М. Н. Кондрашова // Биомед. химия. – 2014. – Т. 60, № 1. – С. 63–71.

Поступила 12.11.2018 г.

Принята в печать 29.11.2018 г.

References

1. Kostyuchenko MV. The modern concept of prevention of progression of endotoxemia and disorders of the liver and kidneys in emergency surgery. Mezhdunar Zhurn Prikladi Fundam Issled. 2013;(9):113-4. (In Russ.)
2. Vlasov AP, Tarasova TV, Kozlov IG, Loginova OV, Leshchankina NYu, Visaitov DA. Ways to improve the capabilities of natural detoxification mechanisms in acute peritonitis. Kuban Nauch Med Vestn. 2010;(2):17-22. (In Russ.)
3. Abdullaev EG, Babyshin VV, Novikov YuA, Gusev AV, Malakhov NB; Ivan gos med akad; Vladim gos un-t im AG i NG Stoletovykh. Peritonitis: ucheb-prakt posobie. Vladimir, RF: Izd-vo VIGU; 2014. 144 p. (In Russ.)
4. Grattagliano I, Bonfrate L, Diogo CV, Wang HH, Wang DQ, Portincasa P. Biochemical mechanisms in drug-induced

liver injury: certainties and doubts. World J Gastroenterol. 2009 Oct;15(39):4865-76.

5. Zvenigorodskaya LA, Nilova TV, Petrakov AV. Lipid peroxidation and activity of lipoprotein-associated phospholipase A2 in serum of patients with nonalcoholic fatty liver disease. Poliklinika. 2015(5-1):48-52. (In Russ.)
6. Kannan N, Sakthivel KM, Guruvayoorappan C. Protective Effect of Acacia nilotica (L.) against Acetaminophen-Induced Hepatocellular Damage in Wistar Rats. Adv Pharmacol Sci. 2013;(2):987692. doi: 10.1155/2013/987692
7. Letunovskiy AV. Metabolic changes in the liver in experimental alcoholic pancreatitis and their correction. Kuban Nauch Med Vestn. 2011;(6):90-4. (In Russ.)
8. Sirota TV, Zakharchenko MV, Kondrashova MN. The activity of cytoplasmic superoxide dismutase - a sensitive indicator of the antioxidant system of the rat liver and brain. Biomed Khimiia. 2014;60(1):63-71. (In Russ.)

Submitted 12.11.2018

Accepted 29.11.2018

Сведения об авторах:

Яроцкая Н.Н. – научный сотрудник научно-исследовательской лаборатории, Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет,
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2493-7653>;

Косинец В.А. – д.м.н., профессор кафедры госпитальной хирургии с курсами урологии и детской хирургии, Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет,
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7127-1877>;

Королькова Н.К. – к.м.н., доцент, и.о. заведующего кафедрой офтальмологии, Витебский государственный орден Дружбы народов медицинский университет,
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6172-6767>.

Information about authors:

Yarotskaya N.N. – research officer of the Scientific-Research Laboratory, Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University,

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2493-7653>;

Kosinets V.A. – Doctor of Medical Sciences, professor of the Chair of Hospital Surgery with the courses of Urology & Pediatric surgery, Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University,

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7127-1877>;

Karalkova N.K. – Candidate of Medical Sciences, associate professor, acting head of the Chair of Ophthalmology, Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University,

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6172-6767>.

Адрес для корреспонденции: Республика Беларусь, 210009, г. Витебск, пр. Фрунзе, 27, Витебский государственный орден Дружбы народов медицинский университет, Научно-исследовательская лаборатория. E-mail: yardip@yandex.ru – Яроцкая Наталья Николаевна.

Correspondence address: Republic of Belarus, 210009, Vitebsk, 27 Frunze ave., Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University, Scientific-Research Laboratory. E-mail: yardip@yandex.ru – Natalia N. Yarotskaya.

МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ, ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКАЯ И ИММУНОФЛЮОРЕСЦЕНТНАЯ ДИАГНОСТИКА ТИПИЧНЫХ РАННИХ И ПОЗДНИХ ЭЛЕМЕНТОВ СКЛЕРОАТРОФИЧЕСКОГО ЛИХЕНА

КУЗЬМЕНКО-МОСКВИНА Ю.А.

Городское клиническое патологоанатомическое бюро, г. Минск, Республика Беларусь

Вестник ВГМУ. – 2018. – Том 17, №6. – С. 55-63.

MORPHOLOGIC, IMMUNOHISTOCHEMICAL AND IMMUNOFLOUORESCENT DIAGNOSING OF TYPICAL EARLY AND ADVANCED SCLEROATROPHIC LICHEN FEATURES

KUZMENKA-MASKVINA Y.A.

City Clinical Pathologoanatomic Bureau, Minsk, Republic of Belarus

Vestnik VGMU. 2018;17(6):55-63.

Резюме.

Склероатрофический лихен (САЛ) представляет собой распространенное идиопатическое хроническое заболевание кожи и слизистых оболочек с преимущественным вовлечением генитальной области, требующее динамического наблюдения и должного лечения. Процесс проявляется лейкодермическими атрофичными пятнами или бляшками. В мире в целом и в Республике Беларусь в частности пациенты с САЛ в подавляющем большинстве обращаются к гинекологам и урологам. На этом этапе очаги поражения зачастую расцениваются не иначе как «лейкоплакия» (греч. leucos белый + plakos пластинка) и подвергаются биопсийному исследованию. Имея типичную микроскопическую картину на этапе сформированного элемента, в начале своего развития данный процесс выглядит гистологически не столь убедительно и специфично. Тем самым всякий раз у морфолога возникают трудности в его верификации. По этой причине и на гистологическом этапе САЛ часто остается нераспознанным. Выявление особенностей микроскопического строения САЛ с последующей клинико-морфологической корреляцией позволяют установить верный диагноз.

Ключевые слова: склероатрофический лихен, ранний элемент, поздний элемент, патоморфология, перестройка дермы, иммуногистохимия, иммунофлюоресценция.

Abstract.

Scleroatrophic lichen (SAL) is a common chronic idiopathic skin and mucous membranes disease with a predominant involvement of the genital area. It needs dynamic observation and proper treatment. The disease manifests itself with leukodermic atrophic patches and plaques. Worldwide in general and in the Republic of Belarus in particular, patients with SAL tend to consult mainly gynecologists and urologists. At this stage usually the diagnosis of «leukoplakia» (Greek leucos white + plakos plate) is made with a further biopsy examination. Despite distinct microscopic features fully developed lesions at the early phase of their development seem not to be quite specific and persuasive thereby causing difficulties in their verification. For this very reason the disease is often not recognized histologically. The only way to the correct diagnosis is the revealing of microscopic SAL structure peculiarities with the subsequent clinicomorphologic correlation.

Key words: scleroatrophic lichen, early lesion, developed lesion, pathomorphology, dermal remodelling, immunohistochemistry, immunofluorescence.

Склероатрофический лихен представляет собой опосредованный лимфоцитами дерматоз неясной этиологии, с излюбленной локализацией

в аногенитальной зоне и тенденцией к прогрессированию без должного лечения [1]. Гиподиагностика данного заболевания существует как

на клиническом, так и на патоморфологическом этапах. Основными причинами данной проблемы являются недостаточная осведомленность большинства гинекологов, урологов и патоморфологов о спектре аногенитальных дерматозов, использование устаревшей терминологии и подмена конкретного диагноза описательными клиническими понятиями типа «лейкоплакия», «эритроплакия» и др. Клинически распознать САЛ зачастую сложно из-за внешнего вида элементов поражения, которые сводятся лишь к лейкодерме – белой окраске кожи или слизистой оболочки вкупе с наличием или отсутствием ее атрофии. При морфологической оценке трудности возникают из-за кажущейся на первый взгляд неспецифичности гистологических изменений, особенно при ранней стадии дерматоза.

Элементы САЛ, как, впрочем, и любого дерматоза, характеризуются склонностью к эволюции, другими словами, имеют разное гистологическое строение в зависимости от давности существования. Принято считать, что микроскопически ранние очаги выглядят более неспецифичными и воспалительными, поздние, напротив, – специфичными и менее воспалительными. Сформированный элемент САЛ становится узнаваемым за счет ряда гистологических признаков, предложенных еще в 1998 году Carlson и соавторами как минимальные гистологические критерии для постановки диагноза. Таковые включают паттерн (другими словами – совокупность микроскопических изменений) вакуольной пограничной реакции в сочетании со склерозом дермы (гомогенизированные и гиалинизированные коллагеновые волокна) любой толщины, отделяющим воспалительный инфильтрат от эпителия или стенок сосудов [2].

Однако на практике часто можно столкнуться с ситуацией, когда клинически элемент существует давно, но при этом микроскопически выглядит воспалительным, без заметного склероза дермы, т. е. ранним. Margen и соавторы (1997) изучали корреляцию между длительностью существования поражения САЛ и его гистологическим видом, придя к выводу, что одно от другого зависит слабо [3].

Патогистологические признаки САЛ, рассмотренные на примере типичной для этой патологии аногенитальной локализации, идентичны независимо от зоны вовлечения [1]. В этой области заболевание может вовлекать вульву и перианальную область у женщин и крайнюю плоть и

головку полового члена – у мужчин. Поражение вульвы захватывает преимущественно внутреннюю поверхность больших половых губ, малые половые губы, область клитора, ладьевидную ямку и заднюю спайку [1]. Часто вовлекаются паховые складки. Преддверие вульвы и влагалище относятся к редким локализациям данного патологического процесса [1, 3]. Опубликован случай вторичного вовлечения слизистой оболочки влагалища вследствие пролапса матки [4]. Уретра также затрагивается редко [5]. У мужчин заболевание может вовлекать крайнюю плоть, головку, уздечку и венечную борозду полового члена, а также распространяться на отверстие уретры. Периаанальная зона, как правило, не поражается [1].

Таким образом, целью данной работы явилось обобщение и анализ литературы, посвященной изучению патогистологической картины типичных ранних и поздних элементов САЛ.

Патоморфология ранних изменений

Наиболее ранние гистологические изменения при САЛ выражены слабо и выглядят неспецифично. Они включают гиперплазию эпидермиса и хроническое воспаление, которое обнаруживается в самых верхних отделах дермы, контактируя непосредственно с покровным эпителием (рис. 1) [6].

Акантоз, представляющий собой утолщение эпидермиса преимущественно за счет шиповатого слоя, на данном этапе обычно характеризуется нерегулярностью (рис. 1). Иногда он может быть «псориазиформный» – т. е. выраженный и мономорфный (рис. 2). Гиперкератоз и паракератоз эпителия обычно варьируемы.

В классическом раннем элементе заболевания помимо гиперплазии эпидермиса и поверхностного лимфоцитарного воспаления появляются так называемые пограничные изменения (син.: гидropическая дистрофия, или дегенерация базальных эпителиоцитов, базальная вакуолизация эпидермиса), приводящие к утолщению базальной мембраны вследствие клеточного повреждения (рис. 3). Базальная мембрана чаще утолщается не столько диффузно, сколько очагово. При этом она может фрагментироваться с образованием гомогенных ШИК-положительных глыбок, видимых в подлежащей дерме (рис. 4) [7]. Ультраструктурные изменения базальной мембраны при САЛ характеризуются не только ее фрагментацией, но и редупликацией с формированием в ней

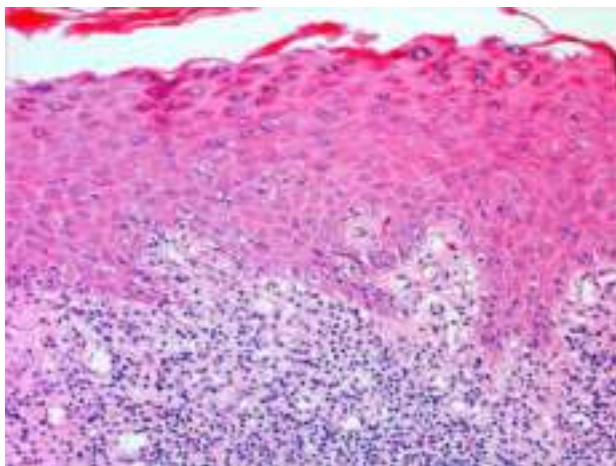


Рисунок 1 – Ранний элемент САД, окраска гематоксилином и эозином (г/э), х200: гиперкератоз, гипергранулез, акантоз, вакуолизация базальных эпителиоцитов, субэпителиальное хроническое воспаление.

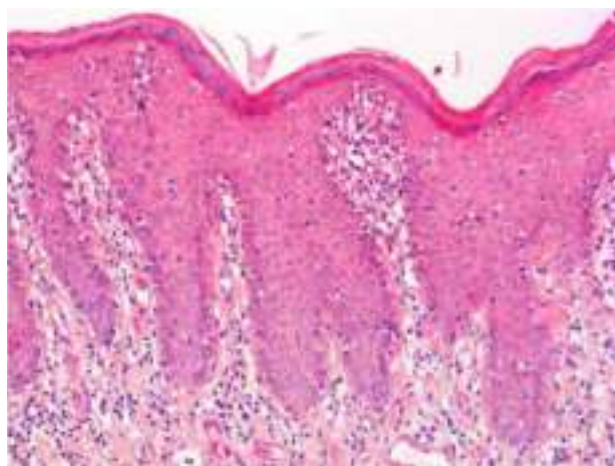


Рисунок 2 – Ранний элемент САД, окраска г/э, х200: гиперкератоз, паракератоз, псориазiformный акантоз, вакуолизация базальных эпителиоцитов, хроническое воспаление.

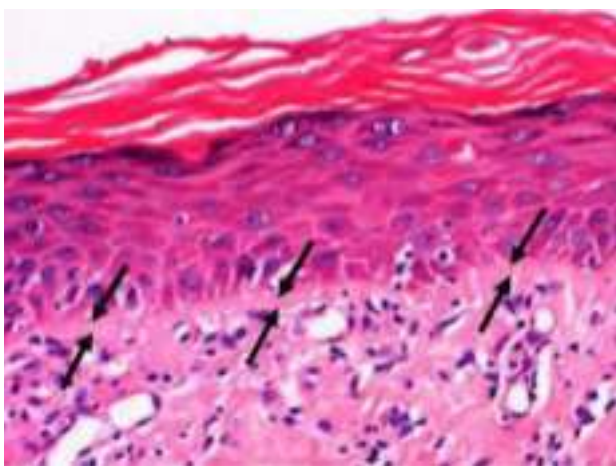


Рисунок 3 – Ранний элемент САД, окраска г/э, х400: гиперкератоз, вакуолизация базальных эпителиоцитов, диффузное утолщение базальной мембраны.

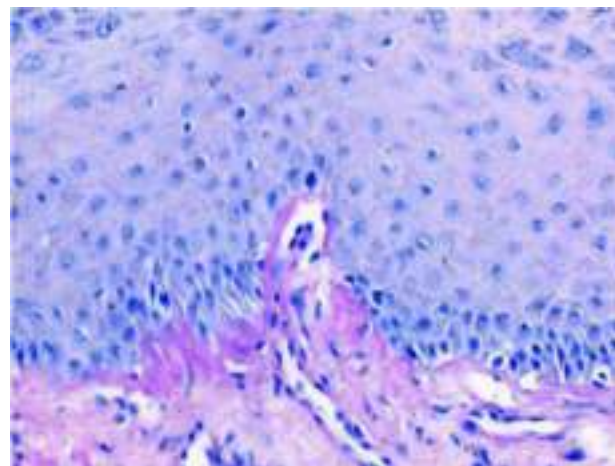


Рисунок 4 – Ранний элемент САД, ШИК-реакция, х400: утолщенная базальная мембрана окрашена ШИК-положительно.

инвагинатов и пробелов на уровне между светлой и темной пластинками [7-10]. По мнению Marren и соавторов, неясно, являются ли описанные изменения в базальной мембране первичными или опосредованы воспалением [11].

Гидропическая дистрофия базальных эпителиоцитов порой выражена настолько, что приводит к формированию субэпидермальных пузырьков и пузырей (рис. 5) [1, 6]. Weedon указывает, что в буллезных элементах САД расщепление определяется ниже темной пластинки. В этом случае причина формирования пузыря кроется в выраженном отеке сосочкового слоя дермы. В случае прогрессирования пограничных

изменений формирование расщепления под эпидермисом происходит выше уровня базальной мембраны [7].

Ранние изменения сопровождаются появлением лимфоцитарного инфильтрата, который может быть скудным или выраженным, периваскулярным или межучасточным, с эпидермальным лимфоцитарным экзоцитозом или без него (рис. 6) [6]. Если инфильтрат непрерывный плотный поверхностный полосовидный, размывающий дермо-эпидермальное соединение и сопряжен с базальным экзоцитозом лимфоцитов – он называется «лихеноидным» [12]. В такой ситуации морфологическая картина часто напоминает

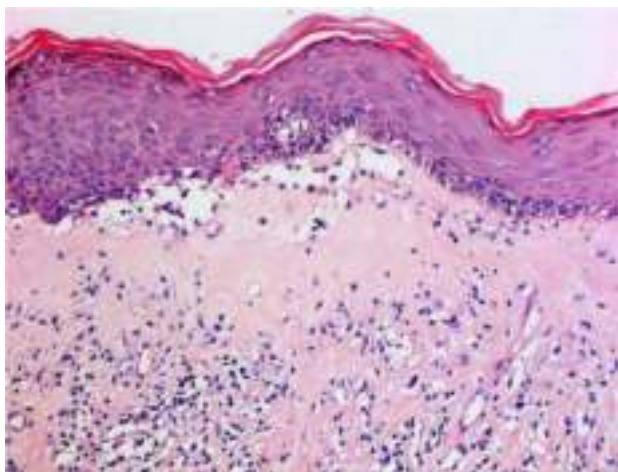


Рисунок 5 – Ранний элемент САЛ, окраска г/э, х200: гиперкератоз, гипергранулез (слева), слабовыраженный акантоз эпидермиса, субэпидермальный пузырек, гомогенизация верхних отделов дермы, лимфогистиоцитарный инфильтрат под ней.

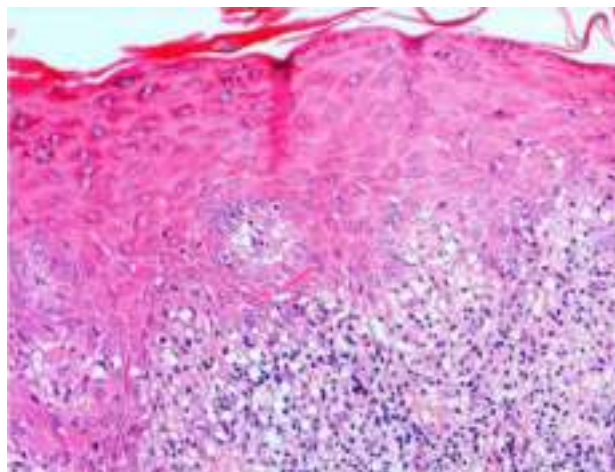


Рисунок 6 – Ранний элемент САЛ, окраска г/э, х200: гиперкератоз, гипергранулез, умеренно выраженный нерегулярный акантоз эпидермиса, вакуолизация базальных эпителиоцитов, лихеноидный воспалительный инфильтрат.

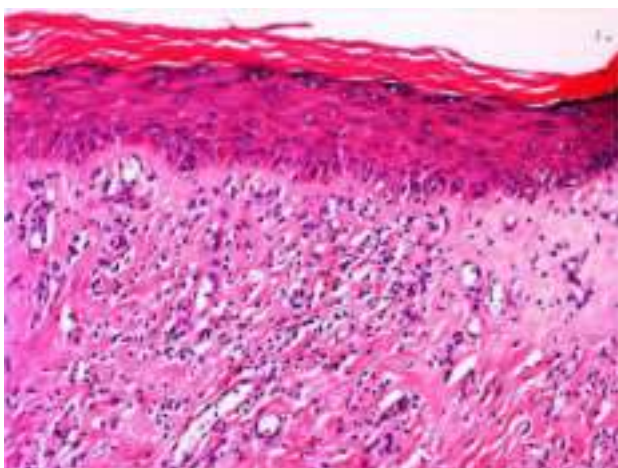


Рисунок 7 – Ранний элемент САЛ, окраска г/э, х200: гиперкератоз, гипергранулез, слабовыраженный акантоз эпидермиса, очаговая вакуолизация базальных эпителиоцитов, зона гомогенизации коллагена (вверху справа) и очаговый гиалиноз волокон, хроническое воспаление.

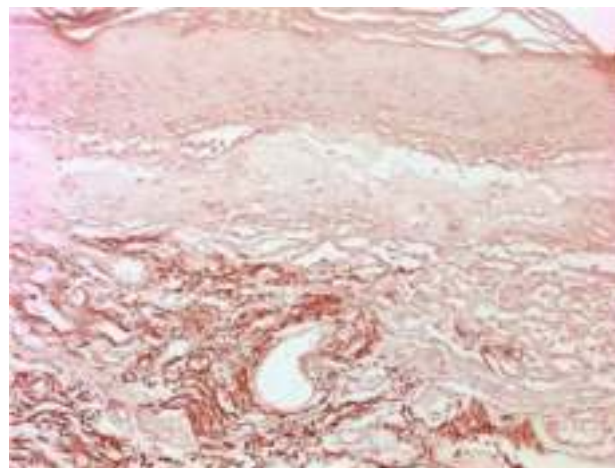


Рисунок 8 – Ранний элемент САЛ, окраска орсеином, х200: очаговое исчезновение эластических волокон в сосочковом слое дермы.

красный плоский лишай (КПЛ) [1, 7]. В подавляющем большинстве случаев помимо лимфоцитов определяется переменная примесь гистиоцитов и плазмочитов [6, 7].

Изменения при САЛ затрагивают и верхние отделы дермы, манифестируя в форме отека и набухания коллагеновых волокон, придавая ей более светлый и однородный, другими словами, бесструктурный вид (рис. 7). Наряду с отеком часто имеет место эктазия сосудов в сосочках дермы [6]. Так запускается процесс ремоделирования, т.е. перестройки, сосочкового слоя дермы,

в ходе которого качественно и количественно изменяются коллагеновые и эластические волокна. Первые становятся набухшими, слабоэозинофильными, с размытыми границами. Вторые исчезают в зоне гомогенизации и сохраняются под ней (рис. 8) [7, 13, 14].

Биоптаты ранних элементов редко демонстрируют сразу все вышеописанные изменения [6]. К ключевым признакам раннего САЛ следует относить гиперплазию эпидермиса, экзоцитоз лимфоцитов и утолщение базальной мембраны [15].

Немаловажно в случаях раннего САЛ об-



Рисунок 9 – Поздний элемент САЛ, окраска г/э, x200: фолликулярный гиперкератоз, атрофия эпидермиса, базальная вакуолизация эпителия волосяной воронки, гомогенизация дермы

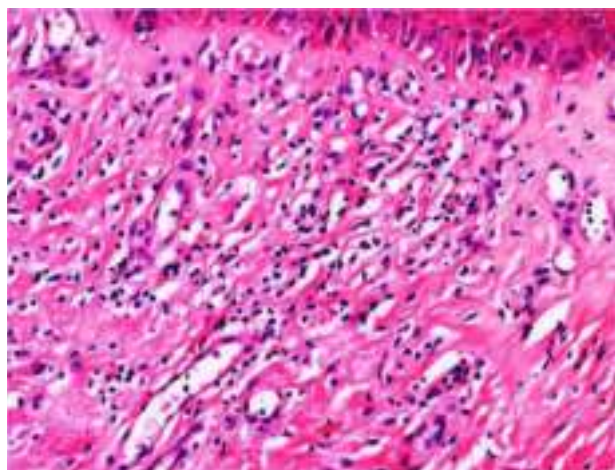


Рисунок 10 – Ранний элемент САЛ, окраска г/э, x400 (большее увеличение рис. 7): очаговый склероз и гиалиноз (более эозинофильно окрашены) волокон дермы, выстроенные между ними в ряд лимфоциты.

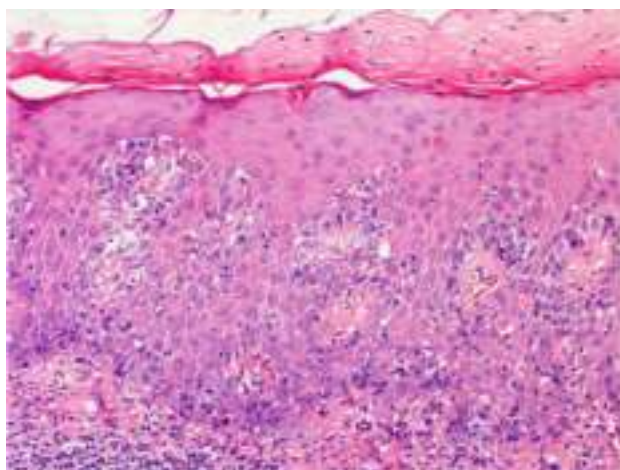


Рисунок 11 – Ранний элемент САЛ, окраска г/э, x200: диффузный паракератоз, псориазiformный акантоз, дискератоз всех слоев эпидермиса, пограничные изменения, реактивная атипия базальных кератиноцитов, гомогенизация сосочков дермы, субэпителиальный воспалительный инфильтрат.

ращать внимание на состояние придатков кожи, в частности волосяных фолликулов. Гистологические признаки заболевания на данном этапе более заметны именно в этих структурах, нежели в интерфолликулярной зоне. В инфундибулярном эпителии определяются вариабельные комбинации акантоза, гиперкератоза и гипергранулеза, а также гидропическая дистрофия базальных эпителиоцитов и утолщение базальной мембраны. Наибольшую выраженность эти изменения приобретают уже на этапе развитого элемента САЛ (рис. 9) [16].

Особенно затруднительна верификация САЛ при его морфологической картине в виде псориазiformного лихеноидного дерматита без полосы склероза. Руководствуясь этим, Weyers в своей работе исследовал 100 биоптатов САЛ генитальной и периаанальной области на предмет 28-ми критериев. Автор вывел признаки, которые наиболее часто встречаются при данном заболевании и могут использоваться в виде так называемых «ключей» к постановке диагноза «несклеротического САЛ». Таковые включают мелкие очаги гомогенизированной ткани в сосочках дермы, выраженный фиброз с утолщением сосочкового слоя дермы или отдельных коллагеновых волокон (рис. 7, 10), лимфоциты, выстроенные в ряд между этими волокнами (рис. 10), дискератоз в Мальпигиевом и роговом слоях эпидермиса, вариабельный паракератоз (рис. 11) [17].

Патоморфология поздних изменений

По мере прогрессирования процесса эпидермис становится атрофичным, узкая зона отека оттесняет воспалительный инфильтрат книзу, а верхние отделы дермы гомогенизируются. Говоря иначе, замещаются аморфной стекловидной слабоэозинофильной массой, практически лишенной клеток [6, 7, 18]. В полосе гомогенизации определяются лишь эктазированные тонкостенные сосуды (рис. 12) [19]. Некогда светлый гомогенизированный сосочковый слой дермы впоследствии преобразуется в зону гиалиноза. При окраске гематоксилином и эозином он становит-

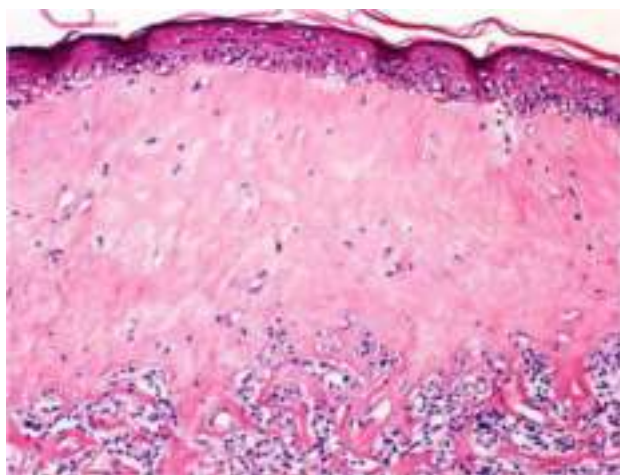


Рисунок 12 – Поздний элемент САЛ, окраска г/э, х200: атрофия и базальная вакуолизация эпидермиса, субэпителиальная зона гомогенизации дермы с телеангиоэктазией, под ней – хронический воспалительный инфильтрат.

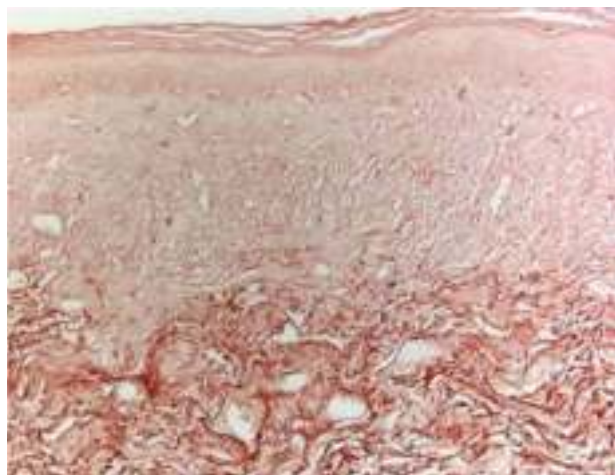


Рисунок 13 – Поздний элемент САЛ, окраска орсеином, х200: полное исчезновение эластических волокон в сосочковом слое дермы.

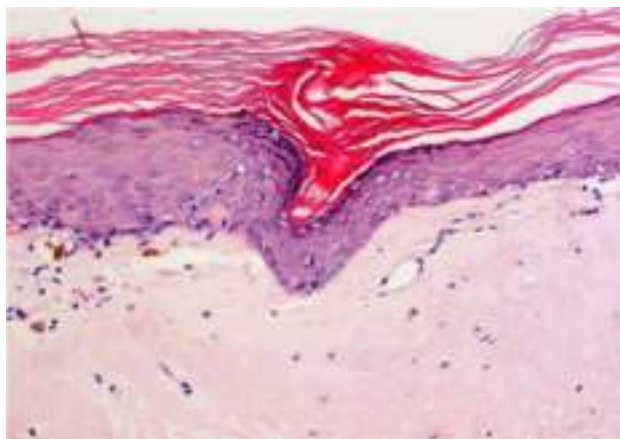


Рисунок 14 – Поздний элемент САЛ, окраска г/э, х200: гиперкератоз в устье акросирингиума, недержание пигмента.

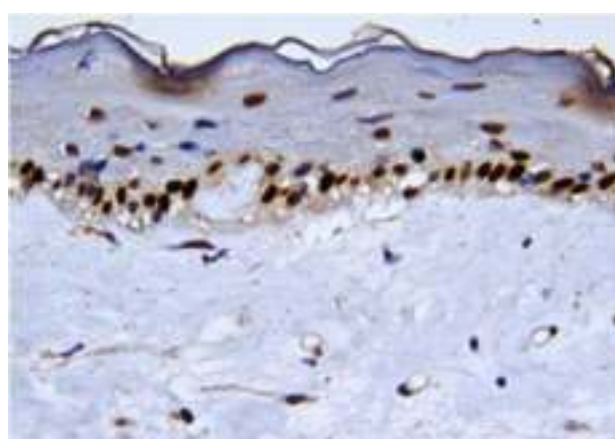


Рисунок 15 – Поздний элемент САЛ, иммуногистохимическое исследование с белком p53, х400: повышенная экспрессия p53 в базальных клетках.

ся более интенсивно окрашенным [7]. В зоне гиалиноза коллагеновые волокна выглядят набухшими и гомогенными, определяется всего несколько ядер фиброцитов [6]. Отмечается полная потеря нормального фибриллярного строения коллагена с исчезновением эластических волокон в зоне гомогенизации (рис. 13) [12]. В развитом элементе инфильтрат располагается уже в средних отделах дермы [6], становится менее выраженным и более рассеянным [7].

Таким образом, полностью развитый элемент САЛ характеризуется истонченным эпидермисом с вакуолизацией базальных эпителиоцитов, широкой полосой гомогенизированной гиализированной дермы субэпидермально, лимфогистиоцитарным инфильтратом непосред-

ственно под ней [1].

Эпидермис часто характеризуется реактивными изменениями вследствие субъективного зуда и расчесывания. Это выражается в компактном гиперкератозе и гипергранулезе. Гиперкератоз обычно значителен, в областях с наличием потовых желез и волос часто ассоциирован с роговыми пробками (рис. 14) [1].

Наряду с вышеперечисленными гистологическими изменениями в верхних отделах дермы можно выявить дермальные меланофаги, которые указывают на предшествовавшее разрушение пигментированных эпителиоцитов или меланоцитов (рис. 14) [6]. Такие изменения носят название «недержание пигмента». Гиперпигментированный макроскопический вид САЛ об-

условлен именно этим изменением в дерме [7].

Воспалительный инфильтрат на этом этапе может быть очаговым периваскулярным [6]. В длительно существующих элементах он бывает очень скудным, простроенным буквально из нескольких плазмочитов и гистиоцитов [7].

Иммуногистохимическое и иммунофлюоресцентное исследование

В подавляющем большинстве случаев воспалительный инфильтрат при САЛ поликлональный. Пул лимфоцитов представлен смесью CD4+ и CD8+ клеток [1]. Однако описаны случаи САЛ с моноклональностью инфильтрата. Так, Citarella и соавторы (2003) исследовали 9 случаев САЛ с плотным поверхностным полосовидным воспалительным инфильтратом. Они провели молекулярный анализ на предмет перестройки гена гамма-цепи рецептора Т-лимфоцита (TCR) с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР) и выявили поликлональность в 8-ми и моноклональность в 1-м из изученных наблюдений. Полученные в данной работе результаты позволили сделать вывод о том, что диагноз САЛ, особенно в случаях моноклональной популяции Т-клеток, может быть не выставлен без должной клинкоморфологической корреляции. Исходя из этого, авторы высказали предложение включить САЛ в список кожных Т-клеточных псевдолимфом [20].

Kempf и соавторы (2014) приводят случай САЛ крайней плоти с изъязвлением элемента, наличием атипической поликлональной Т-клеточной CD30+ пролиферации в просвете лимфатических сосудов вблизи зоны дефекта. Подобная картина расценивается ими как реактивный процесс, очень редко встречающийся в коже [21].

Известно, что в элементах САЛ наблюдается вариабельная экспрессия белка-супрессора опухолей p53. Значительно выше экспрессия данного маркера в аногенитальных очагах поражения, нежели в экстрагенитальных, в особенности при длительном их существовании (рис. 15) [2, 22, 23]. Подобная картина может отражать повышенный риск злокачественной трансформации или же окислительный стресс, вызванный САЛ [1, 23].

Иммунофлюоресцентное исследование в случаях САЛ обычно негативно или демонстрирует неспецифическое свечение депозитов фибрина в области дермо-эпидермального соединения [3].

Патоморфология экстрагенитальных элементов

Гистологическое изменение при САЛ экстрагенитальной локализации, в частности полости рта, сходны с вышеописанными [1]. Weedon (2010) указывает, что толщина гиперплазированного эпидермиса в экстрагенитальных очагах поражения втрое меньше в сравнении с генитальной зоной [7]. При локализации заболевания во рту поражается область, где многослойный плоский эпителий ороговеет – т.е. твердое небо, неподвижная часть десен (простирается от зуба полосой 0,3-0,7 см) и спинка языка [3]. В зоне неороговевающего покровного эпителия, как указывает Brown и соавторы, подобная САЛ морфологическая картина скорее будет представлять собой случаи КПЛ [24].

Заключение

Биопсийное исследование генитального САЛ должно осуществляться в клинически спорных ситуациях, а также, если элемент эрозирован или веррукозно изменен. В последнем случае возникает необходимость исключения злокачественной трансформации САЛ, что выполнимо лишь на этапе гистологического исследования.

Суммируя вышеизложенное, можно отметить, что морфологический диагноз САЛ поздней стадии обычно не затруднителен. Развитый элемент характеризуется истонченным эпидермисом с вакуолизацией базальных эпителиоцитов, под которым определяется широкая полоса гомогенизированной дермы с лимфогистиоцитарным инфильтратом непосредственно под ней. Распознавание САЛ при отсутствии субэпителиальной полосы склероза затруднительно и зависит от ряда менее специфичных признаков. К таковым относятся гиперплазия эпидермиса, утолщение базальной мембраны, появление мелких очагов гомогенизации коллагена наряду с исчезновением эластических волокон на фоне субэпидермального хронического воспалительного инфильтрата дермы. Полезной становится и оценка состояния волосяных фолликулов, в которых вышеописанные изменения могут развиваться уже на самой ранней стадии заболевания. Эти признаки в совокупности с клиническими данными позволяют выставить верный гистопатологический диагноз. Поскольку САЛ относится к достаточно частой патологии аногенитальной локализации, в любом

лихеноидном и пограничном дерматите генитальной кожи или слизистых оболочек необходимо рассматривать возможность ранней стадии этого заболевания. Только своевременное распознавание и должное лечение раннего поражения могут привести к долговременной ремиссии САЛ.

Литература

1. McKee's Pathology of the Skin : in 2 vol. / J. E. Calonje [et al.]. – 4th ed. – USA : Elsevier, 2012.
2. Clinicopathologic comparison of vulvar and extragenital lichen sclerosis: histologic variants, evolving lesions and etiology in 141 cases / J. A. Carlson [et al.] // *Mod. Pathol.* – 1998 Sep. – Vol. 11, N 9. – P. 844–854.
3. Rook's Textbook of Dermatology : in 4 vol. / T. Burns [et al.]. – 8th ed. – UK : Blackwell Publishing Ltd, 2010.
4. Bhargava, K. Lichen sclerosis occurring on vaginal mucosa secondary to uterine prolapse / K. Bhargava, F. M. Lewis // *J. Obstet. Gynaecol.* – 2013 Apr. – Vol. 33, N 3. – P. 319–320.
5. Etiology of urethral stricture disease in the 21st century / N. Lumen [et al.] // *J. Urol.* – 2009 Sep. – Vol. 182, N 3. – P. 983–987.
6. Atlas and Synopsis of Lever's Histopathology of the Skin / D. E. Elder [et al.]. – 2nd ed. – USA : Lippincott Williams and Wilkins, 2007.
7. Weedon, D. Weedon's skin pathology / D. Weedon. – 3rd ed. – London : Elsevier, 2010.
8. Lichen sclerosis et atrophicus. A histological, immunohistochemical, and electron microscopic study / Y. Mihara [et al.] // *Arch. Dermatol. Res.* – 1994. – Vol. 286, N 8. – P. 434–442.
9. Mann, P. R. Ultrastructural changes in four cases of lichen sclerosis et atrophicus / P. R. Mann, M. A. Cowan // *Br. J. Dermatol.* – 1973 Sep. – Vol. 89, N 3. – P. 223–231.
10. Dupre, A. Basal lamina with a garland-like pattern in a case of scleroatrophic lichen: ultrastructural study / A. Dupre, R. Viraben // *Ann. Dermatol. Venereol.* – 1988. – Vol. 115, N 1. – P. 19–26.
11. Basement membrane zone in lichen sclerosis: an immunohistological study / P. Marren [et al.] // *Br. J. Dermatol.* – 1997 Apr. – Vol. 136, N 4. – P. 508–514.
12. Busam, K. Dermatopathology / K. Busam. – 1st ed. – USA

: Elsevier, 2010.

13. Increase of elastic fibers in lichen sclerosis et atrophicus / Y. Shiba [et al.] // *J. Cutan. Pathol.* – 2014 Aug. – Vol. 41, N 8. – P. 646–649.
14. Unusual remodeling of the hyalinization band in vulval lichen sclerosis by type V collagen and ECM 1 protein / C. A. Godoy [et al.] // *Clinics (Sao Paulo)*. – 2015 May. – Vol. 70, N 5. – P. 356–362.
15. Lester, E. B. Eosinophils in biopsy specimens of lichen sclerosis: a not uncommon finding / E. B. Lester, B. L. Swick // *J. Cutan. Pathol.* – 2014 Jan. – Vol. 42, N 1. – P. 16–21.
16. Regauer, S. Early vulvar lichen sclerosis: a histopathological challenge / S. Regauer, B. Liegl, O. Reich // *Histopathology*. – 2005 Oct. – Vol. 47, N 4. – P. 340–347.
17. Weyers, W. Hypertrophic lichen sclerosis sine sclerosis: clues to histopathologic diagnosis when presenting as psoriasiform lichenoid dermatitis / W. Weyers // *J. Cutan. Pathol.* – 2015 Feb. – Vol. 42, N 2. – P. 118–129.
18. Billings, S. D. Inflammatory Dermatopathology: A Pathologist's Survival Guide / S. D. Billings, J. Cotton. – New York : Springer Science : Business Media LLC, 2011.
19. Detection of *Borrelia burgdorferi* DNA (*B. garinii* or *B. afzelii*) in morphoea and lichen sclerosis et atrophicus tissues of German and Japanese but not US patients / H. Fujiwara [et al.] // *Arch. Dermatol.* – 1997 Jan. – Vol. 133, N 1. – P. 41–44.
20. Lichen sclerosis with histopathologic features simulating early mycosis fungoides / L. Citarella [et al.] // *Am. J. Dermatopathol.* – 2003 Dec. – Vol. 25, N 6. – P. 463–465.
21. Benign atypical intravascular CD30+ T-cell proliferation: a recently described reactive lymphoproliferative process and simulator of intravascular lymphoma: report of a case associated with lichen sclerosis and review of the literature / W. Kempf [et al.] // *Am. J. Clin. Pathol.* – 2014 Nov. – Vol. 142, N 5. – P. 694–699.
22. Altered p53 expression and epidermal cell proliferation is seen in vulval lichen sclerosis / S. H. Tan [et al.] // *J. Cutan. Pathol.* – 1994 Aug. – Vol. 21, N 4. – P. 316–323.
23. Cell cycle regulation and proliferation in lichen sclerosis / T. Gambichler [et al.] // *Regul. Pept.* – 2011 Apr. – Vol. 167, N 2/3. – P. 209–214.
24. Lichen sclerosis et atrophicus of the oral cavity: report of two cases / A. R. Brown [et al.] // *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.* – 1997 Aug. – Vol. 84, N 2. – P. 165–170.

Поступила 10.04.2018 г.

Принята в печать 29.11.2018 г.

References

1. Calonje JE, Brenn T, Lazar AJ, Billings SD. McKee's Pathology of the Skin: in 2 vol. 4th ed. USA: Elsevier, 2012.
2. Carlson JA, Lamb P, Malfetano J, Ambros RA, Mihm MC. Clinicopathologic comparison of vulvar and extragenital lichen sclerosis: histologic variants, evolving lesions and etiology in 141 cases. *Mod Pathol.* 1998 Sep;11(9):844-54.
3. Burns T, Breathnach S, Cox N, Griffiths C. Rook's Textbook of Dermatology: in 4 vol. 8th ed. UK: Blackwell Publishing Ltd; 2010.
4. Bhargava K, Lewis FM. Lichen sclerosis occurring

on vaginal mucosa secondary to uterine prolapsed. *J Obstet Gynaecol.* 2013 Apr;33(3):319-20. doi: 10.3109/01443615.2012.738720

5. Lumen N, Hoebeke P, Willemsen P, De Troyer B, Pieters R, Oosterlinck W. Etiology of urethral stricture disease in the 21st century. *J Urol.* 2009 Sep;182(3):983-7. doi: 10.1016/j.juro.2009.05.023
6. Elder DE, Elenitsas R, Jhonson B, Ioffreda M, Miller J, Miller III OF. Atlas and Synopsis of Lever's Histopathology of the Skin. 2nd ed. USA: Lippincott Williams and Wilkins; 2007.
7. Weedon D. Weedon's skin pathology. 3rd ed. London:

- Elsevier; 2010.
8. Mihara Y, Mihara M, Hagari Y, Shimao S. Lichen sclerosis et atrophicus. A histological, immunohistochemical, and electron microscopic study. *Arch Dermatol Res.* 1994;286(8):434-42.
9. Mann PR, Cowan MA. Ultrastructural changes in four cases of lichen sclerosis et atrophicus. *Br J Dermatol.* 1973 Sep;89(3):223-31.
10. Dupré A, Viraben R. Basal lamina with a garland-like pattern in a case of scleroatrophic lichen: ultrastructural study. *Ann Dermatol Venereol.* 1988;115(1):19-26.
11. Marren P, Dean D, Charnock M, Wojnarowska F. Basement membrane zone in lichen sclerosis: an immunohistological study. *Br J Dermatol.* 1997 Apr;136(4):508-14.
12. Busam K. *Dermatopathology.* 1st ed. USA: Elsevier; 2010.
13. Shiba Y, Ono K, Akiyama M, Fujimoto N, Tajima S. Increase of elastic fibers in lichen sclerosis et atrophicus. *J Cutan Pathol.* 2014 Aug;41(8):646-9. doi: 10.1111/cup.12342
14. Godoy CA, Teodoro WR, Velosa AP, Garippo AL, Eher EM, Parra ER, et al. Unusual remodeling of the hyalinization band in vulvar lichen sclerosis by type V collagen and ECM 1 protein. *Clinics (Sao Paulo).* 2015 May;70(5):356-62. doi: 10.6061/clinics/2015(05)09
15. Lester EB, Swick BL. Eosinophils in biopsy specimens of lichen sclerosis: a not uncommon finding. *J Cutan Pathol.* 2015 Jan;42(1):16-21. doi: 10.1111/cup.12445
16. Regauer S, Liegl B, Reich O. Early vulvar lichen sclerosis: a histopathological challenge. *Histopathology.* 2005 Oct;47(4):340-7.
17. Weyers W. Hypertrophic lichen sclerosis sine sclerosis: clues to histopathologic diagnosis when presenting as psoriasiform lichenoid dermatitis. *J Cutan Pathol.* 2015 Feb;42(2):118-29. doi: 10.1111/cup.12457
18. Billings SD, Cotton J. *Inflammatory Dermatopathology: A Pathologist's Survival Guide.* New York: Springer Science: Business Media LLC; 2011.
19. Fujiwara H, Fujiwara K, Hashimoto K, Mehregan AH, Schaumburg-Lever G, Lange R, et al. Detection of *Borrelia burgdorferi* DNA (*B. garinii* or *B. afzelii*) in morphea and lichen sclerosis et atrophicus tissues of German and Japanese but not US patients. *Arch Dermatol.* 1997 Jan;133(1):41-4.
20. Citarella L, Massone C, Kerl H, Cerroni L. Lichen sclerosis with histopathologic features simulating early mycosis fungoides. *Am J Dermatopathol.* 2003 Dec;25(6):463-5.
21. Kempf W, Keller K, John H, Dommann-Scherrer C. Benign atypical intravascular CD30+ T-cell proliferation: a recently described reactive lymphoproliferative process and simulator of intravascular lymphoma: report of a case associated with lichen sclerosis and review of the literature. *Am J Clin Pathol.* 2014 Nov;142(5):694-9. doi: 10.1309/AJCPXOE61CJDOAJI
22. Tan SH, Derrick E, McKee PH, Hobbs C, Ridley M, Neill S. Altered p53 expression and epidermal cell proliferation is seen in vulvar lichen sclerosis. *J Cutan Pathol.* 1994 Aug;21(4):316-23.
23. Gambichler T, Kammann S, Tigges C, Kobus S, Skrygan M, Meier JJ, et al. Cell cycle regulation and proliferation in lichen sclerosis. *Regul Pept.* 2011 Apr;167(2-3):209-14. doi: 10.1016/j.regpep.2011.02.003
24. Brown AR, Dunlap CL, Bussard DA, Lask JT. Lichen sclerosis et atrophicus of the oral cavity: report of two cases. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 1997 Aug;84(2):165-70.

Submitted 10.04.2018

Accepted 29.11.2018

Сведения об авторах:

Кузьменко-Москвина Ю.А. – врач-патологоанатом, патологоанатомическое отделение общей патологии №1, Городское клиническое патологоанатомическое бюро.

Information about authors:

Kuzmenka-Moskvina Y.A. – pathologist of the pathoanatomical department of general pathology No. 1, City Clinical Pathologoanatomic Bureau.

Адрес для корреспонденции: Республика Беларусь, 220045, г. Минск, ул. Семашко, 8/8, Городское клиническое патологоанатомическое бюро. E-mail: yuliya.k.moskvina@gmail.com – Кузьменко-Москвина Юлия Александровна.

Correspondence address: Republic of Belarus, 220045, Minsk, 8/8 Semashko str., City Clinical Pathologoanatomic Bureau. E-mail: yuliya.k.moskvina@gmail.com – Yuliya A. Kuzmenka-Moskvina.

МАЛОИММУННЫЙ ГЛОМЕРУЛОНЕФРИТ С ПОЛУЛУНИЯМИ: КЛИНИКО-МОРФОЛОГИЧЕСКИЙ И ПРОГНОСТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ

ДМИТРИЕВА М.В.¹, ЛЕТКОВСКАЯ Т.А.², ЧИЖ К.А.², БРАГИНА З.Н.²

¹Городское клиническое патологоанатомическое бюро, г. Минск, Республика Беларусь

²Белорусский государственный медицинский университет, г. Минск, Республика Беларусь

Вестник ВГМУ. – 2018. – Том 17, №6. – С. 64-76.

PAUCI-IMMUNE GLOMERULONEPHRITIS WITH CRESCENTS: CLINICAL, MORPHOLOGICAL AND PROGNOSTIC ANALYSIS

DMITRIEVA M.V.¹, LETKOVSKAYA T.A.², CHYZH K.A.², BRAGINA Z.N.²

¹City Clinical Pathologoanatomic Bureau, Minsk, Republic of Belarus

²Belarusian State Medical University, Minsk, Republic of Belarus

Vestnik VGMU. 2018;17(6):64-76.

Резюме.

Малоиммунный гломерулонефрит (МИГН) относится к наиболее тяжелым формам ГН с неуклонным снижением функции почек, вариабельной клинической картиной, что значительно затрудняет диагностику, а прогноз зачастую зависит от своевременного установления диагноза.

Цель – дать клинико-морфологическую и прогностическую характеристику МИГН с полулуниями в клубочках. Материал и методы. Исследование включало 33 случая МИГН с полулуниями в клубочках с ретроспективным анализом результатов нефробиопсий, клинико-лабораторных данных и оценкой отдаленных результатов по функции почек и летальному исходу. Микропрепараты окрашивали гематоксилином-эозином и гистохимическими окрасками с использованием реактива Шиффа, трихрома по Массону, конго красного, серебра по Джонсу. Проведено прямое иммунофлуоресцентное исследование с иммуноглобулинами классов G, A, M, компонентами комплемента C3c и C1q, фибриногеном, κ и λ компонентами легких цепей (Polyclonal Rabbit Anti-Human/FITC, Dako, Denmark).

Результаты. Гендерно-возрастной анализ продемонстрировал, что половина заболевших была в возрасте старше 50 лет, при этом в 2,3 раза преобладали женщины. Клинические проявления МИГН не зависели от возрастных категорий, степени экстракапиллярного повреждения (диффузного или фокального), а изолированный ГН протекал с более выраженной протеинурией ($p=0,0013$) по сравнению с ГН, ассоциированным с системным васкулитом. Важной характеристикой в отношении определения прогноза явился показатель индекса полулуний (ИП), при повышении которого выше 1,5 риск летального исхода возрастает в 2,3 раза (95% ДИ – 1,16-4,58), а риск прогрессирования заболевания до терминальной стадии хронической почечной недостаточности в 4,6 раза (95% ДИ – 2,46-8,59). Показатель выживаемости функции почек проиллюстрировал 1-, 3- и 5-летнее сохранение ее в 67%, 38 и 14% соответственно. Летальный исход ассоциировался с системными проявлениями васкулита и в 80% наступал в течение первых четырех месяцев наблюдения.

Заключение. Диагноз МИГН требует повышенного внимания к пациентам независимо от клинико-морфологических проявлений. Оценка степени экстракапиллярной пролиферации (ЭП) в почечных клубочках с расчетом ИП важна для определения прогноза в отношении функции почек.

Ключевые слова: малоиммунный гломерулонефрит, экстракапиллярная пролиферация, нефробиопсия, клинические и морфологические проявления, прогноз.

Abstract.

Pauci-immune glomerulonephritis (PIGN) belongs to the most severe forms of the disease with a steady decrease of kidney function, variable clinical picture, which greatly complicates the diagnosing. The prognosis of the disease often depends on the timely made diagnosis.

Objectives. To give a clinical, morphological and prognostic characteristics of PIGN with the crescents in the glomeruli. **Material and methods.** 33 cases of PIGN with crescents in the glomeruli were used in this study. A retrospective analysis of the kidney biopsy results as well as of clinical and laboratory data and the evaluation of long-term results concerning kidney function and lethal outcome were made. The histological slides were stained with hematoxylin-eosin PAS, Masson trichrome, Congo-red, Jones silver. A direct immunofluorescence study was conducted with G,A,M immunoglobulins, C3c and C1q complement components, fibrinogen, κ and λ light chain components (Polyclonal Rabbit Anti-Human / FITC, Dako, Denmark). **Results.** Gender-age analysis showed that half of the cases were 50 and more years old. There were 2,3 times more females than males. The clinical manifestations of PIGN did not depend on the age categories and the degree of extracapillary damage (diffuse or focal). Isolated GN pattern was characterized by more pronounced proteinuria ($p=0,0013$) compared with GN associated with systemic vasculitis. An important characteristic in determining the disease prognosis was the crescent score (CS). In those cases when the crescent score was more than 1,5, the risk of death increased 2,3 times (95% CI 1.16-4.58), and the risk of progression up to the end stage of chronic renal failure was 4.6 times higher (95% CI - 2,46-8,59). The kidney function survival analysis revealed its one-year survival in 67%, 3- and 5-year survival in 38 and 14% of patients, respectively. The lethal outcome was associated with systemic manifestations of vasculitis, 80% of which occurred within the first four months of follow-up.

Conclusions. The diagnosis of PIGN requires an increased attention to patients regardless of clinical and morphological manifestations. The evaluation of extracapillary proliferation (EP) degree in renal glomeruli with calculating CS is important for the prognostication with regard to kidney function.

Key words: *pauci-immune glomerulonephritis, extracapillary proliferation, kidney biopsy, clinical and morphological manifestations, prognosis.*

История изучения гломерулонефритов (ГН) ведет отсчет с 1914 года, когда немецкие исследователи F. Volhard и T. Fahr в впервые описали патологию почек с гистологической картиной скопления клеток в мочевых пространствах клубочков, получившую название ГН с экстракапиллярной пролиферацией (ЭП) (или полулуниями), и указали на связь выявленных изменений с тяжелым течением нефрита. После описания E. Goodpasture в 1919 году летального случая полулунного ГН с легочным кровотечением и гриппоподобными симптомами такое сочетание ГН с легочными проявлениями длительное время относили к синдрому Гудпасчера. Лишь в 1979 году М.М. Stilmant и соавт. обнаружили, что у 35% пациентов с полулунным ГН не наблюдалось отложений иммунных комплексов (ИК) в почечных клубочках ни при иммунофлуоресценции (ИФ), ни при электронной микроскопии, либо эти отложения были столь незначительны, что не позволяли диагностировать какое-либо иммунокомплексное повреждение почек [1]. ГН при этом называли мало-иммунным («pauci-immune») (МИ) и определили, что он может встречаться как самостоятельное заболевание, так и в составе системного васкулита. В патогенезе МИГН важным звеном является развитие лейкоцитокластического васкулита с преимущественным поражением сосудов малого калибра, ассоциированного с антинуклеарными цитоплазматическими антителами (АНЦА), поэтому в научной литературе часто используется синоним – АНЦА-ассоциированный васкулит (ААВ)/ГН. Выделяют

основные формы системных васкулитов, при которых может наблюдаться МИГН: гранулематоз с полиангиитом (ГПА) (Wegener), микроскопический полиангиит (МПА), эозинофильный гранулематоз с полиангиитом (ЭГПА) (Churg-Strauss), диагностические критерии которых отражены в Консенсусной конференции Chapel Hill (CHCC) 2012 года [2]. Поражение почек наиболее часто наблюдается при МПА и ГПА (90% и 80% соответственно), реже при ЭГПА (45%) [3].

Среди ГН с полулуниями выделяют полулунный (или экстракапиллярный) ГН, при котором полулуния наблюдаются более, чем в половине клубочков и часто ассоциированы с некрозом капиллярных петель. МИГН – наиболее частая причина среди экстракапиллярных ГН и составляет от 50 до 60% таких случаев [3]. При полулунном МИГН нередко происходит быстрое снижение почечной функции (в течение недель или месяцев), что является клинко-морфологическим субстратом быстро прогрессирующего гломерулонефрита (БПГН). Согласно современным представлениям термин БПГН не используется в качестве нозологического диагноза, а представляет лишь клинко-морфологический синдром, характеризующий такое нарушение почечной функции, при котором каждые 3 месяца отмечается 50% снижение скорости клубочковой фильтрации, а морфологически более чем в половине клубочков выявляются клеточные полулуния [3-5]. Клинические проявления МИГН могут быть весьма разнообразными, кроме

классического БПГН, может развиваться острая почечная недостаточность (ОПН) с олиго-и анурией, изолированный мочевой синдром (ИМС). Однако в ряде случаев заболевание протекает настолько стерто и вяло, что оно некоторыми авторами было охарактеризовано термином «тлеющее течение», когда к моменту установления диагноза при световой микроскопии выявляется картина либо распространенного нефросклероза, либо фокального полулунного повреждения [3, 6].

Для определения прогноза поражения почек при ААВ по течению заболевания и летальному исходу в 2010 г. Международной рабочей группой предложено использовать гистопатологическую классификацию, где выделены 4 категории повреждений, базирующиеся на соотношении нормальных, склерозированных клубочков и клубочков с клеточными полулуниями: фокальная («F» – focal), при которых полулуния наблюдаются менее чем в 50% клубочков; полулунная («C» – crescentic) при наличии более 50% клубочков с полулуниями; склеротическая («S» – sclerotic) с преобладанием диффузного глобального гломерулярного склероза и смешанная («M» – mixed) с изменениями, не вошедшими ни в одну из групп [7].

Актуальность изучения данной темы обусловлена тем, что в настоящее время отмечается рост заболеваемости как МИГН, так и ААВ в целом, что связано не только с увеличением числа заболевших, но, в большей степени, с улучшением возможностей диагностики данной патологии [8]. Диагностическая ценность нефробиопсии (НБ) при МИГН/ААВ не вызывает сомнения, однако требует уточнения ее значение для ведения пациента и выбора тактики лечения, особенно в отношении пациентов с фокальным и диффузным полулунным МИГН. В связи с тем, что в настоящее время для пациентов с ААВ не установлены критерии быстрого прогрессирования почечной недостаточности, проводится поиск клинических и гистологических признаков, имеющих прогностическое значение для функции почек и в целом для жизни пациентов.

Цель исследования – провести клинικο-морфологический и прогностический анализ подтвержденных при нефробиопсии случаев МИГН с полулуниями в клубочках.

Материал и методы

В ретроспективное исследование включены 33 случая МИГН с ЭП в клубочках, что составило 4,8% от 694 исследованных нативных почек

взрослых пациентов в УЗ «Городское клиническое патологоанатомическое бюро» г. Минска (с 2011 по 2015 годы). Медиана длительности заболевания до выполнения НБ составила 4,0 (2,0-13,0) месяца.

Образцы ткани почки, фиксированные в 10% растворе забуференного формалина, проводили в серии спиртов восходящей крепости, заливали в парафиновые блоки и делали срезы толщиной до 2-3 мкм. Полученные микропрепараты окрашивали гематоксилином-эозином и гистохимическими окрасками с использованием реактива Шиффа, трихрома по Массону, конго красного, серебра по Джонсу. Во всех случаях проведено прямое иммунофлуоресцентное (ИФ) исследование с иммуноглобулинами (Ig) классов G, A, M, компонентами комплемента C3c и C1q, фибриногеном, κ и λ компонентами легких цепей (Polyclonal Rabbit Anti-Human/FITC, Dako, Denmark), интенсивность свечения определяли полуколичественно от 0 до 3+. Диагноз МИГН подтвержден при световой и люминесцентной микроскопии (отсутствие экспрессии в клубочковых структурах всех исследованных иммуноглобулинов и компонентов комплемента или их минимальная (не более 1+) интенсивность).

Гистологическое исследование нефробиоптатов включало оценку изменений клубочков (степени ЭП, удельного веса (в процентном соотношении) сегментарного (СГС) и глобального гломерулосклероза (ГГС)), тубуло-интерстициальных и сосудистых повреждений, в том числе степени интерстициального фиброза (ИсФ)). Критерием клеточных полулуний было наличие двух и более слоев клеток в полости капсулы Шумлянського – Боумена. В исследование включены случаи с любым количеством клубочков с полулуниями в биоптате, любым размером и любой характеристикой полулуний (клеточные, фиброзно-клеточные и фиброзные). Индекс полулуний (ИП) рассчитывали с учетом количества гломерул с полулуниями и степени вовлечения окружности капсулы каждого клубочка [9]. Каждому клубочку присваивали балл в соответствии с процентом ЭП по длине окружности капсулы: 1 – <10%, 2 – $\geq 10\%$ но <25%, 3 – $\geq 25\%$ но <50% и 4 – $\geq 50\%$. Затем баллы суммировали и результат делили на количество несклерозированных клубочков в биоптате. Степень ИсФ оценивали как I при вовлечении менее 30% паренхимы, II – $\geq 30\%$ но <50% и III – $\geq 50\%$.

Для выявления клинικο-морфологических различий и их прогностической значимости в соответствии с гистопатологической классификацией ГН при ААВ 2010 г случаи были разделены на 4

категории: «F», «C», «S» и «M». По клиническим и гистологическим показателям, имеющим прогностическое значение (протеинурия (ПУ), мочевины и креатинин сыворотки крови, удельный вес ГГС, СГС и ИсФ) [1, 7, 10, 11], проведено внутригрупповое сравнение в зависимости от возраста (моложе и старше 50 лет), от количества клубочков с полулуниями (менее и более 50% клубочков) и от изолированного ГН или поражения почек в рамках системного васкулита. Внутри группы исследования проведен анализ случаев в зависимости от гистологического класса МИ ГН.

Клинико-лабораторные данные взяты из биопсийных карт и историй болезни. Показатели функции почек оценивались на момент выполнения НБ по уровням мочевины и креатинина в крови, учитывалась степень ПУ. Среди клинических проявлений выделены нефротический синдром (НС), синдром быстро прогрессирующей почечной недостаточности (БППН), ОПН, хроническая почечная недостаточность (ХПН), ИМС и артериальная гипертензия (АГ). Положительные серологические пробы АНЦА обнаружены у 24 (72,7%) пациентов, негативные у 6 (18,2%), в остальных случаях исследование не проводилось. За конечные точки наблюдения были взяты время начала почечно-заместительной терапии (ПЗТ) (диализа или трансплантации), снижения почечной функции в виде удвоения показателя креатинина от исходного уровня за период наблюдения и летальный исход.

Статистическая обработка данных выполнена с помощью пакета программ Excel 2010 и Statistica 10.0 для непараметрических данных с использованием медианы с межквартильным размахом 25%-75% (Me (25%-75%)) для описательной статистики количественных показателей, проведением корреляционного анализа Спирмена, сравнений по количественному (Манна-Уитни) и качественному бинарному признаку (χ^2 и двусторонний вариант точного критерия Фишера). Для сравнения клинических и морфологических параметров в зависимости от гистопатологической категории выполнен однофакторный дисперсионный анализ ANOVA. Кумулятивную выживаемость показателя функции почек определяли с помощью анализа Каплана-Майера.

Результаты

Возраст пациентов с МИ ГН варьировал от 21 года до 73 лет (49 (38,0-57,0)). Численность женщин (n=23) была в 2,3 раза выше, чем мужчин (n=10).

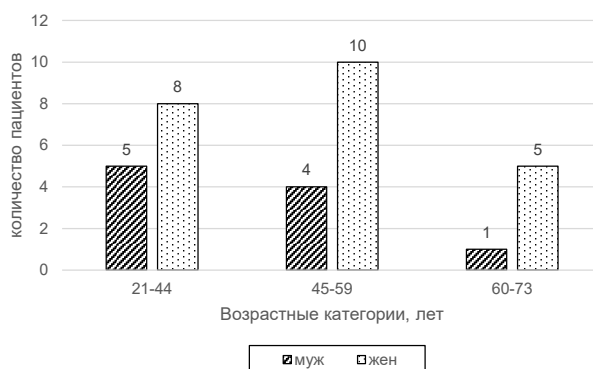


Рисунок 1 – Распределение пациентов по полу и возрасту.

Распределение случаев по полу и возрасту (рис. 1) продемонстрировало, что с увеличением возраста наблюдается снижение удельного веса лиц мужского пола (38,5% у I группы, 28,5% у II, 20% у III), однако статистической достоверности получено не было ($p>0,05$). Пациенты пожилого возраста (старше 60 лет) составили 18,2%.

Кроме того, почти в половине случаев (16/48,5%) возраст заболевших составлял 50 лет и старше, при этом статистически достоверных различий по гендерному признаку между данной группой и пациентами моложе 50 лет также не выявлено ($\chi^2=0,41$, $p=0,520$). В дальнейшем, в группах пациентов моложе и старше 50 лет проведено сравнение по клинико-лабораторным и гистологическим признакам, имеющим прогностическое значение (табл. 1), при котором не выявлено достоверных различий ни по одному из признаков ($p>0,05$).

Важной морфологической характеристикой гломерулярного поражения при МИ ГН была ЭП, представленная скоплением клеток в мочевых пространствах (клеточные полулуния), наряду с которыми наблюдались также фиброзно-клеточные и фиброзные полулуния (рис. 2А-2Г). В 14 (42,4%) биоптатах в почечных клубочках выявлены некрозы капиллярных петель, в 23 (69,7%) фокальный сегментарный гломерулосклероз (ФСГС), мезангиальной пролиферации не отмечалось. Кроме поражения клубочков, в четырех случаях лейкоцитарный ангиит наблюдался в стенках междольковых артерий коркового вещества почки. ИФ – исследование продемонстрировало депозиты фибриногена в зонах некроза клубочков и полулуниях (рис. 2Д). Выявленная экспрессия отдельных иммуноглобулинов (IgG, IgM) и компонентов компонента (C3c и C1q) в мезангиальных зонах интенсивностью не более 1+ не противоречила диагнозу МИ ГН (рис. 2Е).

Таблица 1 – Сравнение клинико-морфологических показателей в группах по возрастному признаку

Признак	Группы по возрасту		Стат. достоверность различий, p
	<50 лет, n=17	≥50 лет, n=16	
Снижение функции почек, абс (%)	14 (82,3)	16 (100)	0,227 [†]
БППН, абс (%)	8 (47,1)	9 (56,3)	0,598 [†]
ХПН, абс (%)	6 (35,3)	2 (12,5)	0,225 [†]
ОПН, абс (%)	1 (5,9)	4 (25,0)	0,175 [†]
НС, абс (%)	2 (11,8)	1 (6,3)	1,000 [†]
АГ, абс (%)	13 (76,5)	15 (93,8)	0,335 [†]
Системность, абс (%)	10 (58,8)	11 (68,8)	0,554 [†]
Летальный исход, абс (%)	3 (17,6)	2 (12,5)	1,000 [†]
Мочевина, Ме	13,0 (9,1-18,0)	18,8 (11,7-28,6)	0,117*
Креатинин, Ме	0,18 (0,146-0,268)	0,248 (0,161-0,494)	0,201*
Протеинурия, Ме	1,18 (0,74-2,56)	0,885 (0,745-1,735)	0,505*
% клубочков с полулуниями, Ме	41,7 (15,4-57,1)	53,6 (28,7-67,7)	0,189*
ИП, Ме	1,67 (0,54-2,13)	1,67 (1,0-2,03)	0,782*
% ГГС, Ме	26,7 (14,3-36,4)	27 (9,7-45,7)	0,900*
% СГС, Ме	28,6 (10,5-42,9)	19,1 (0,0-30,1)	0,188*
% ИсФ, Ме	35,0 (15,0-50,0)	40,0 (27,5-60,0)	0,228*

Примечание: * – критерий Манна-Уитни, † – χ^2 , ‡ – двусторонний точный критерий Фишера.

Показатель ИП был определен по НБ 28 пациентов. Оценка полученных данных продемонстрировала вариабельность ИП от 0,2 до 3,73 (1,67 (0,805-2, 065)) (рис. 3) и прямую сильную связь с процентом полулуний (Spearman R=0,933, p<0,05).

Проведен клинико-морфологический анализ случаев в зависимости от процентного соотношения клубочков с полулуниями в НБ. Случаи с фокальной и диффузной ЭП были распределены примерно поровну (48,5% и 51,5% соответственно). Проведенное сравнение данных групп по клиническим и морфологическим показателям (табл. 2) не выявило достоверных различий ни по одному из клинических либо морфологических показателей.

Развитие МИГН в 21 (63,6%) случае сопровождалось явлениями васкулита в других органах и системах: желудочно-кишечном тракте, скелетной мускулатуре, верхних дыхательных путях, периферических нервах, сердце и др., что согласно определениям СНСС 2012 года [2] позволило у 11 пациентов установить диагноз ГПА, у 5 – МПА, еще у 5 тип системного васкулита не удалось идентифицировать. В 12 (36,4%) случаях при МИГН системные проявления отсутствовали. Во всех случаях ГПА наблюдалось поражение верхних дыхательных путей (носа и придаточных пазух), по одному случаю – поражение внутреннего уха, орбиты, кожи. У пациента, страдавшего МПА, в одном случае развився васкулит мозговых артерий с кровоизлиянием в головной мозг, что послужило причиной летально-

го исхода. Одним из важных проявлений системного васкулита является легочно-почечный синдром (диффузное альвеолярное кровотечение и ГН с почечной недостаточностью), который диагностирован у 6 (28,6%) пациентов, пневмония наблюдалась у 10 (47,6%). Сравнение клинического течения и морфологических признаков у пациентов с изолированным ГН и ГН при системном васкулите представлено в таблице 3. В группе изолированного ГН выявлен статистически достоверно более высокий показатель ПУ (U=39,5, p=0,0013).

Согласно классификации 2010 года [7], все случаи МИГН были сгруппированы по гистопатологическим категориям. Наибольшее количество случаев были отнесены к категориям «М» и «С» (42,4% и 36,4% соответственно), 5 (15,2%) имели признаки категории «S» и всего 2 (6,1%) – «F». У выделенных групп пациентов проанализированы клинико-морфологические показатели (табл. 4), ожидаемо были получены статистически достоверные различия по проценту ЭП и ИП между «М» и «С» (p<0,05), а также категория «S» отличалась от остальных («М», «С» и «F») по % ГГС (p<0,05).

У 27 пациентов проанализирована динамика течения заболевания за период от 0,75 до 62 (12 (2,0-30,0)) месяцев. Снижение функции почек развилось в 21 (77,8%) случае, из них в 15 (71,4%) случаях потребовалась диализотерапия, в 3 (14,3%) случаях данный вид лечения был прекращен в связи с улучшением и стабилизацией почечной функ-

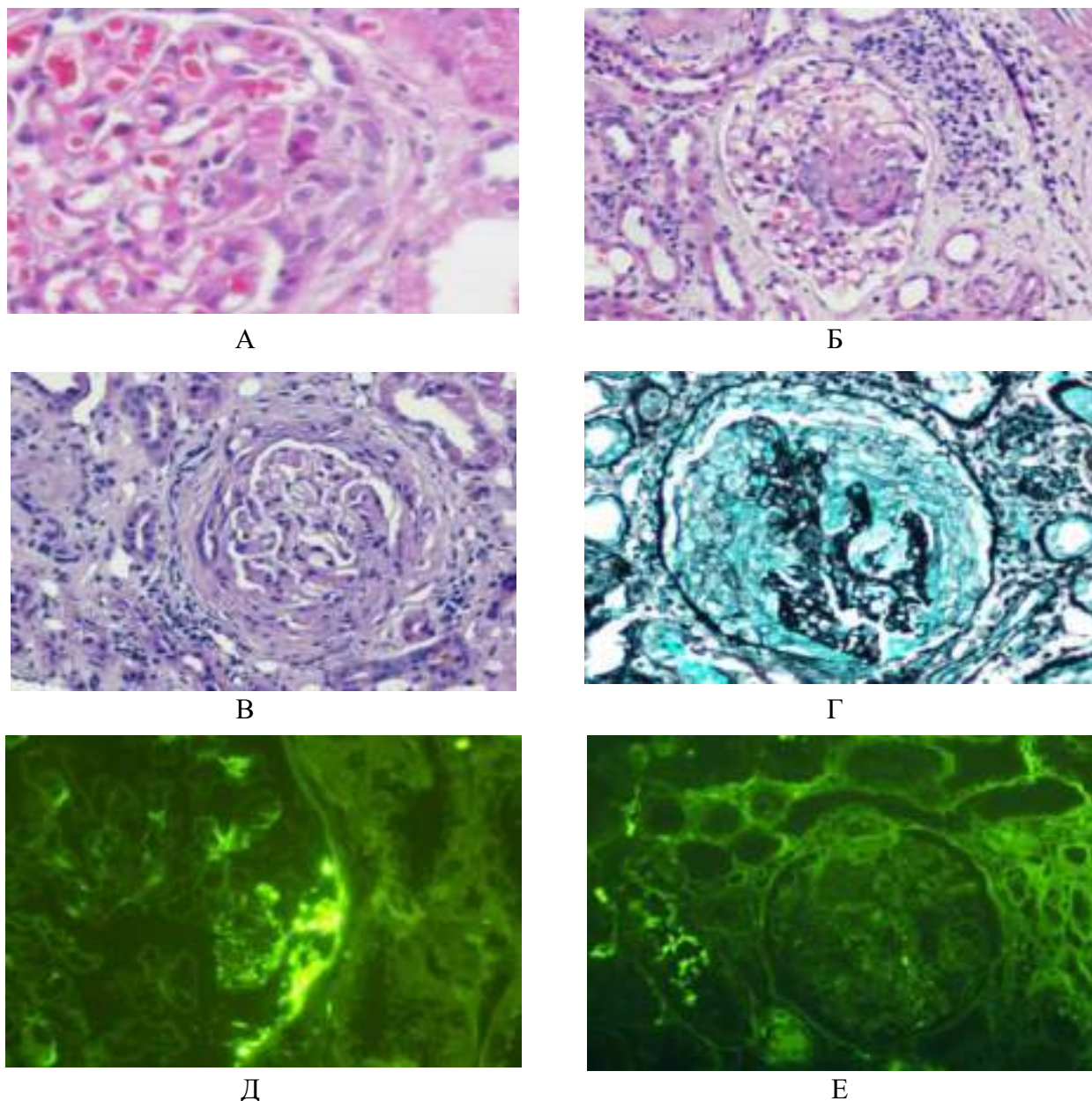


Рисунок 2 – А – Клеточное полулуние на $\frac{1}{4}$ окружности клубочка (гематоксилин-эозин, ув. х 400);
 Б – Сегментарный фибриноидный некроз капиллярных петель клубочка (реактив Шиффа, ув. х 200);
 В – Циркулярное фиброзное полулуние в клубочке (реактив Шиффа, ув. х 200);
 Г – Фиброзно-клеточное циркулярное полулуние (серебрение по Джонсу, ув. х 200);
 Д – Депозиты фибриногена в клубочковом полулунии (ув. х 400);
 Е – Следовая клубочковая экспрессия иммуноглобулина класса G (ув. х 200).

ции, а в 5 (23,8%) наступил летальный исход, причинами которого были прогрессирование васкулита в виде легочно-почечного синдрома (n=3), васкулит с поражением мозговых артерий с внутримозговым кровоизлиянием (n=1) и хроническая сердечная недостаточность (n=1). Анализ показателя выживаемости продемонстрировал сохранение функции почек в течение одного года в 67% случаев, в течение 3-х лет в 38%, в течение 5 лет – в 14%. При оценке

летальных случаев было показано, что 80% (4 из 5) погибли в течение первых четырех месяцев (рис. 4).

Картина БППН выявлена в 12 (44,4%) случаях, из них стойкое снижение функции почек наблюдалось у 8 пациентов, 5 из которых стали получать ПЗТ (диализотерапию), а у 4 пациентов прогрессирование снижения функции почек удалось приостановить или даже улучшить показатели. У всех 5 пациентов с первоначальной картиной ОПН функция

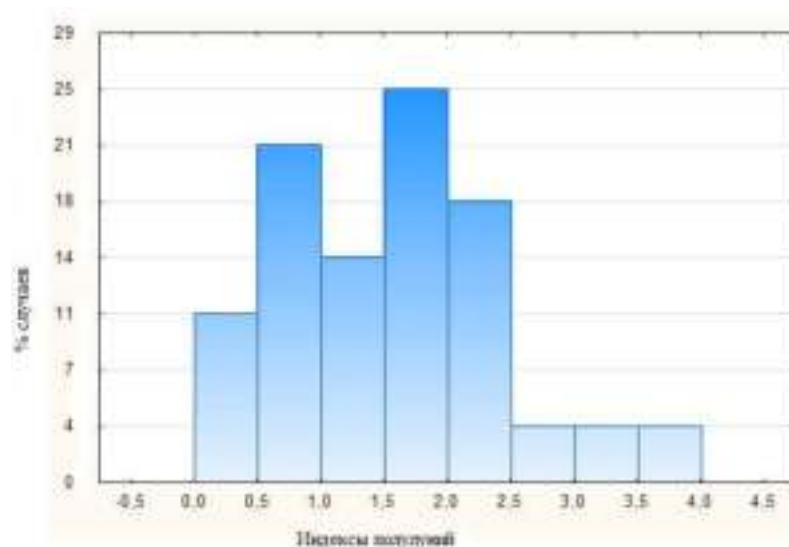


Рисунок 3 – Распределение случаев по индексу полулуний в биоптатах.

Таблица 2 – Сравнение клинико-морфологических показателей в группах с фокальным и диффузным полулунным малоиммунным гломерулонефритом

Показатели	Фокальный ГН (<50% клуб. с ЭП), n=16	Диффузный ГН (≥50% клуб. с ЭП), n=17	Стат. достоверность различий, p
Возраст, Ме	45,5 (39,0; 55,0)	51,0 (35; 57)	0,564*
НС, абс (%)	2 (12,5%)	1 (5,9%)	0,601†
АГ, абс (%)	15 (93,8%)	14 (82,4%)	0,601†
Нарушение функции почек, абс. (%)	13 (81,3%)	17 (100%)	0,103†
Протеинурия, Ме	0,9 (0,58; 1,34)	1,16 (0,87; 3,0)	0,207*
Мочевина, Ме	11,4 (6,99; 18,81)	18,4 (13,0; 26,0)	0,054*
Креатинин, Ме	0,183 (0,11; 0,26)	0,29 (0,18; 0,49)	0,069*
Клубочковые некрозы, абс. (%)	5 (31,3%)	9 (52,9%)	0,208†
% ГГС Ме	27,0 (14,3; 36,9)	22,7 (6,1; 46,2)	1,000*
% СГС Ме	17,1 (2,15; 36,25)	28,6 (0; 42,9)	0,675*
% ИсФ, Ме	32,5 (20,0; 52,5)	40,0 (35,0; 55,0)	0,285*
Эндотелиальная пролиферация, абс. (%)	6 (37,5%)	6 (35,3%)	0,895†

Примечание: * – критерий Манна-Уитни, † – χ^2 , ‡ – двусторонний точный критерий Фишера.

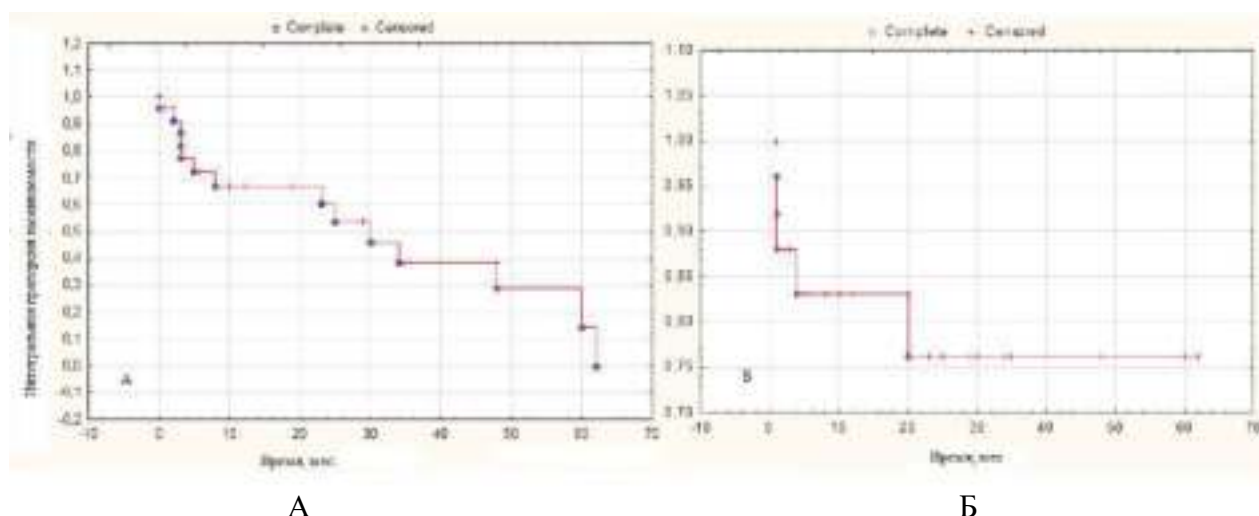


Рисунок 4 – Кривые показателя выживаемости Каплана-Майера по сохранению функции почек (А) и по летальности пациентов (Б).

Таблица 3 – Сравнение клинико-морфологических показателей в зависимости от системного или изолированного проявления

Признак	Системные проявления		Стат. достоверность различий, p
	есть, n=20	нет, n=13	
Нарушение функции почек, абс. (%)	19 (95,0)	11 (84,6)	0,547 [†]
БПГН, абс. (%)	12 (60,0)	5 (38,5)	0,226 [†]
ХПН, абс. (%)	3 (15,0)	5 (38,5)	0,213 [†]
НС, абс. (%)	0 (0,0)	3 (23,1)	0,052 [†]
АГ, абс. (%)	16 (80,0)	13 (100)	0,136 [†]
Мочевина, Ме	19,7 (10,35-31,75)	13,0 (10,1-16,8)	0,063*
Креатинин, Ме	0,241 (0,164-0,519)	0,18 (0,13-0,27)	0,097*
Протеинурия, Ме	0,80 (0,575-1,149)	2,22 (1,18-3,70)	0,001*
% клубочков с полулуниями, Ме	50,0 (25,6-66,6)	45,5 (27,3-60,0)	0,768*
ИП, Ме	1,7 (0,88-2,03)	1,4 (0,73-2,1)	0,689*
% ГГС, Ме	25,0 (10,35-45,15)	26,7 (14,3-45,2)	0,754*
%СГС, Ме	24,5 (0,0-37,5)	20,0 (0,00-41,7)	1,000*
% ИсФ, Ме	40,0 (25,0-45,0)	45,0 (30,0-60,0)	0,868*

Примечание: * – критерий Манна-Уитни, † – χ^2 , ‡ – двусторонний точный критерий Фишера.

почек при наблюдении осталась сниженной, у 2 пациентов развилась поздняя стадия хронической болезни почек с назначением гемодиализа, еще двое умерли. Клиническая картина ХПН наблюдалась в 8 (24,2%) случаях МИГН, при этом у всех выявлены клеточные и фиброзно-клеточные полулуния, а фиброзные у 4 (50%). Следует отметить, что у 7 (87,5%) пациентов в НБ определен умеренный и выраженный интерстициальный фиброз, 6 (75%) продемонстрировали смешанный тип, по одному (12,5%) – полулунный и склеротический. Кроме того, проведенная оценка влияния степени ИсФ (выше II и выше III) на развитие стойкого нарушения почечной функции статистически досто-

верных различий не выявила ($p=0,319$ и $p=0,607$ соответственно). Летальных исходов ни среди пациентов с ХПН, ни с выраженной степенью ИсФ не наблюдалось.

К моменту НБ у подавляющего большинства (87,9%) отмечалось нарушение функции почек, причем все 3 случая без нарушения почечной функции имели $ИП \leq 1,5$. В зависимости от указанного показателя ИП нами проведено сравнение по функции почек и количеству летальных исходов (рис. 5).

Представленные гистограммы демонстрируют, что при $ИП > 1,5$ риск летального исхода возрастает в 2,3 раза (95% ДИ (1,16-4,58)), а риск прогрес-

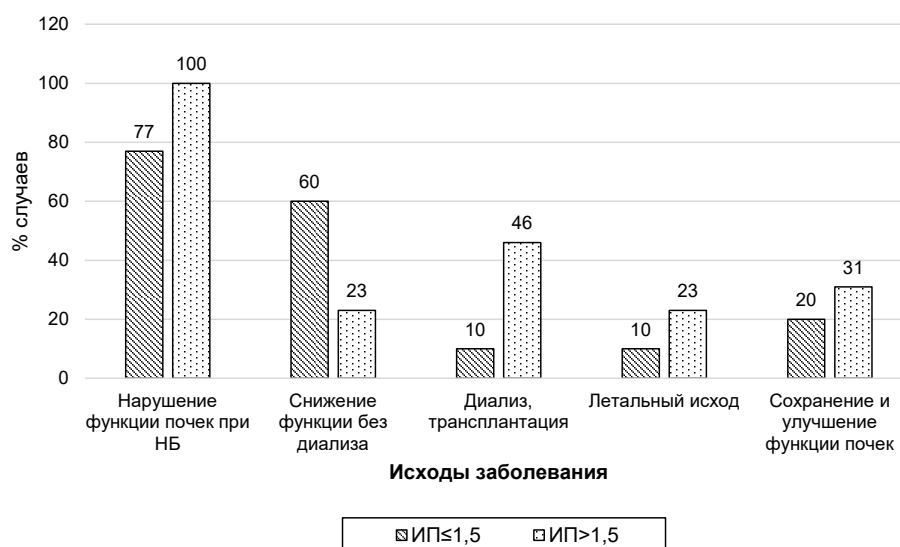


Рисунок 5 – Распределение случаев по исходам заболевания в зависимости от индексов полулуний.

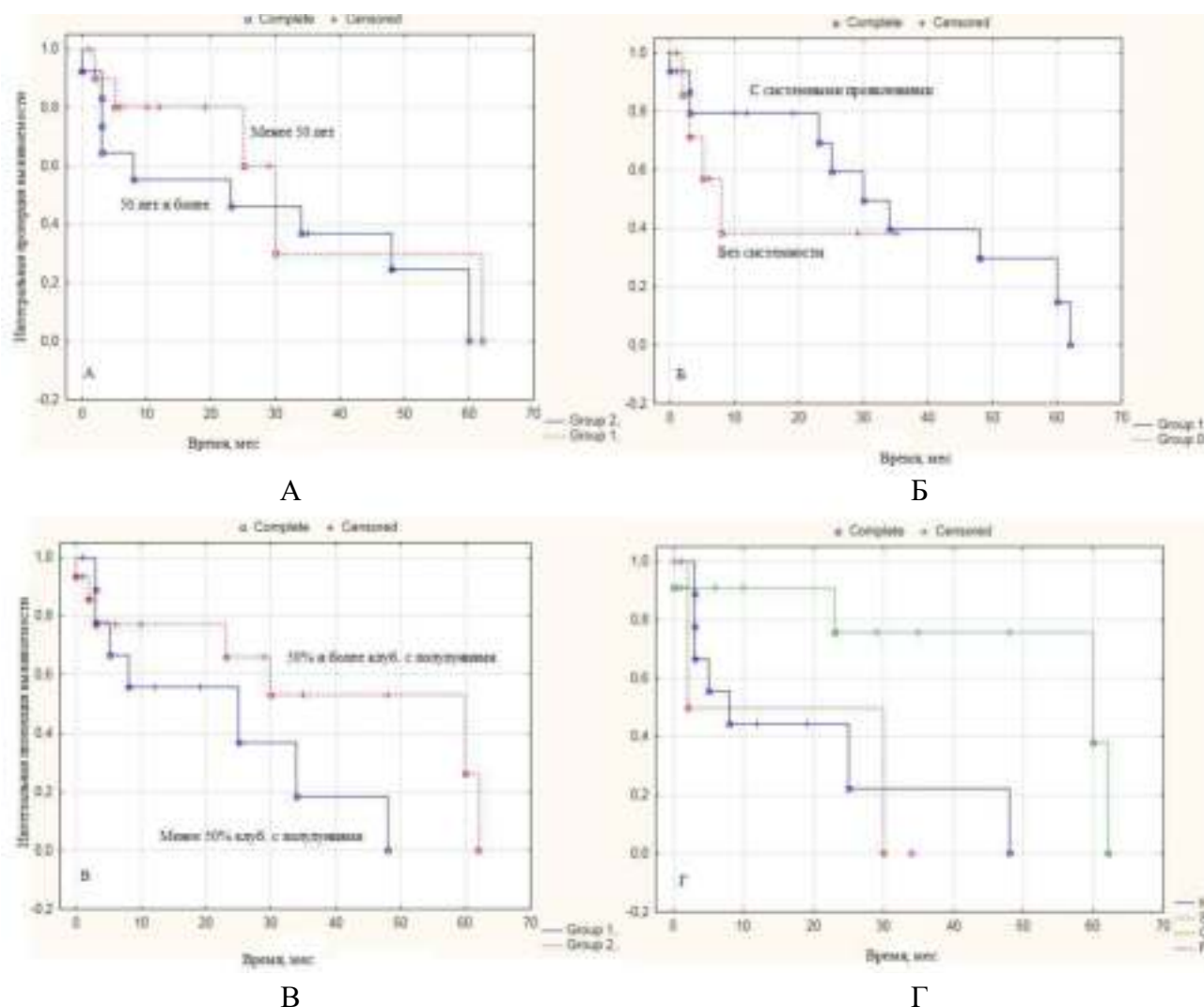


Рисунок 6 – Кривые показателей выживаемости Каплана-Майера по сохранению функции почек при динамическом наблюдении: А – сравнение групп по возрастному признаку; Б – в зависимости от системных проявлений; В – от удельного веса клубочков с полулуниями; Г – от гистопатологической категории.

сирования заболевания до развития терминальной стадии ХПН, требующей ПЗТ (диализ и трансплантация почки) в 4,6 раза (95% ДИ (2,46-8,59)). Случаи с показателем ИП $\leq 1,5$ продемонстрировали достоверно более медленное снижение функции почек без развития терминальной ХПН (ОР-2,61, 95% ДИ (1,76-3,86)) за период наблюдения. По показателям выживаемости в отношении функции почек проведено сравнение между группами по возрасту, в зависимости от системных проявлений, от процента клубочков с полулуниями и от гистопатологической категории (рис. 6).

Следует отметить, что различия между группами наблюдались, однако ни в одном из сравнительных исследований статистической достоверности не выявлено (А, Б, В – Log-Rank Test $p=0,374$; 0,514 и 0,159 соответственно, Г – $p=0,292$).

Обсуждение

В научной литературе широко обсуждаются гендерно-возрастные особенности МИГН. Зарубежными исследователями было отмечено, что число случаев возрастает с увеличением возраста. Так, наличие полулунного ГН у пациентов старше 60 лет в 80% случаев ассоциировано с малоиммунной природой, в то время как в остальных возрастных группах удельный вес данной патологии колеблется от 42 до 48% [5]. Кроме того, у лиц старше 80 лет заболевание развивается в 2,5 раза чаще, чем в средней возрастной группе [12]. Возрастная характеристика пациентов в проведенном нами исследовании демонстрирует 18,2% заболевших старше 60 лет с 5-кратным преобладанием женского пола в данной группе, при этом в целом численность женщин

выше в 2,3 раза. Несоответствие с приведенными данными других авторов можно объяснить более редким выполнением НБ в Республике Беларусь у лиц пожилого и старческого возраста на фоне наличия у этих пациентов сердечно-сосудистой патологии, с которой чаще и связывают поражение почек в таком возрасте.

МИГН с полулуниями неоднороден по клиническим и морфологическим проявлениям. Характерным для данного заболевания является не только развитие БПГН, хотя в нашем исследовании именно такая картина преобладала и составила половину случаев (17/51,5%). Довольно часто наблюдались ХПН (8/24,2%) и ОПН (5/15,2%). Наличие ХПН к моменту НБ чаще указывает на вялотекущее, «тлеющее» течение заболевания при неяркой выраженности проявлений ГН, что не заставляет пациента вовремя обратиться к врачу либо нестораживает врача, и диагноз устанавливается в далеко зашедшей стадии заболевания при гистологической картине нефросклероза. Развитие ОПН, особенно у пациентов наиболее старшей возрастной группы, также требует выяснения причины данного состояния, при этом среди пожилых пациентов с ОПН МИГН обнаруживается в 33% [12].

По данным М. Samarkos и соавт., около 75% пациентов МИГН имеют синхронную или метакронную манифестацию системного васкулита с вовлечением сосудов малого калибра, проявляющуюся поражением различных органов и систем, среди которых ведущее значение придается развитию легочно-почечного синдрома [6]. Более низкий показатель случаев с системными проявлениями в нашем исследовании (20 / 60,6%) наиболее вероятно связан с неполным представлением клинических данных в биопсийных картах и, возможно, в отдельных случаях отсутствием результатов динамического наблюдения. Случаи с поражением только почек характеризовались более высоким уровнем протеинурии, при этом все 5 пациентов с летальным исходом страдали системным васкулитом. Анализируя причины летальных исходов, необходимо отметить, что во всех исследованных нами случаях, несмотря на иммуносупрессивное лечение, было отмечено прогрессирование васкулита.

Классификация А.Е. Berden и соавторов была создана как простой метод, основанный на гистологических изменениях гломерулярного повреждения, выявляемых при световой микроскопии, что в дальнейшем может быть распространено на создание алгоритмов лечения. Авторами про-

демонстрировано, что неблагоприятный прогноз в отношении функции почек коррелировал со склеротическим паттерном клубочкового повреждения, распространенным интерстициальным фиброзом и нарушением почечной функции в начале заболевания. В 80% случаев склеротического паттерна за период наблюдения либо наступал летальный исход (высокий риск смерти в течение первого года после установления диагноза), либо терминальная стадия ХПН. Пациенты с фокальными изменениями имели относительно сохраненную почечную функцию и благоприятный исход. Случаи с высокоактивным полулунным ГН, несмотря на значительное снижение почечной функции в дебюте заболевания, имели хороший шанс для восстановления функции, чего не наблюдалось в других группах. Особый интерес представляли пациенты со смешанным фенотипом, которые имели промежуточный вариант прогноза и демонстрировали второй по частоте уровень риска прогрессии почечной недостаточности [7]. Однако дальнейшие исследования [10, 13, 14] не всегда демонстрировали прогрессию заболевания у пациентов данной группы. Невозможность достоверно предсказать прогноз в случаях смешанной категории объясняется относительной неспецифичностью морфологических изменений в клубочках и сложностью оценки данной группы. Анализ гистопатологических категорий в нашем исследовании выявил значительное преобладание полулунной и смешанной, что, возможно, связано с агрессивным течением указанных форм, требовавшим проведения НБ. Относительно небольшое количество случаев склеротической и фокальной категорий можно объяснить более стертой клинической картиной, при которой пациенты не направлялись на биопсию почки. Полученные различия между гистологическими категориями (табл. 4) по ИП и проценту полулуний, а также по удельному весу ГГС были основаны на изначальных признаках их формирования.

Несмотря на проведение иммуносупрессивной терапии, МИГН характеризуется тяжелым течением с высокой летальностью (до 20% в течение первого года) и потерей функции почек у 25% пациентов в течение 4-х лет после установления диагноза [12]. Полученные нами данные свидетельствуют о летальных исходах в 5 (15,2%) случаях и неуклонном снижении почечной функции, которая через 5 лет остается сохраненной лишь у 14% заболевших. В работе также изучено влияние степени ЭП в клубочках на клиническое течение

Таблица 4 – Распределение клинико-морфологических показателей в зависимости от гистологической категории, Ме [25%-75%]

Показатели	Гистопатологические категории			
	F, n=2	S, n=5	M, n=14	C, n=12
% клубочков с полулуниями	16,65 (8,3-25,0)	75 (50-85,7)	27,0 (14,3-35,9)*	60,65 (55,2-75,85)
ИП	0,625 (0,25-1,0)	2,0 (2,0-2,13)	0,65 (0,53-1,3)**	2,03 (1,7-2,47)
Протеинурия	0,7 (0,4-1,0)	0,9 (0,8-3,0)	1,13 (0,74-1,96)	1,15 (0,80-2,85)
Мочевина	6,6 (4,7-8,5)	18,0 (10,0-18,4)	13,89(10,2-20,32)	19,66 (12,55-29,35)
Креатинин	0,11 (0,07-0,14)	0,44 (0,15-0,49)	0,22 (0,18-0,276)	0,212 (0,16-0,53)
% ГГС	20,8 (14,3-27,3)	71,4(50,0-89,5)***	27,4 (14,3-37,5)	16,05 (0,0-28,0)
% СГС	0 (0,0-0,0)	29,4 (28,6-50)	19,1 (10,5-41,7)	24,5 (0-38,1)
% ИсФ	17,5 (10-25)	60 (40-60)	37,5 (25-60)	40 (27,5-42,5)

Примечание: * – $p_{M-S}=0,020$, $p_{M-C}=0,000$, ** – $p_{M-S}=0,018$, $p_{M-C}=0,000$, *** – $p_{S-M}=0,001$, $p_{S-C}=0,000$, $p_{S-F}=0,021$.

и прогноз МИГН. Диффузный и фокальный экстракапиллярный ГН были распределены примерно поровну (17/51,5% и 16/48,5% соответственно), хотя публикации зарубежных авторов указывают всего на 20% пациентов с ААВ и полулуниями в 26-49% клубочков [15]. Отсутствие достоверных различий по клинико-морфологическим параметрам, а также по показателю выживаемости, характеризующему функцию почек при внутригрупповом сравнении МИГН, свидетельствует об одинаковом по тяжести течении у пациентов вне зависимости от деления по возрасту или по проценту полулуний. Не вызывает сомнений (и это подтверждено рядом работ), что степень гломерулосклероза и ИсФ, свидетельствующие о необратимых изменениях в ткани почки, являются важными предикторами резистентности к терапии [10]. И если значение степени склероза клубочков отражено в качестве прогностического фактора [7], то данные о влиянии степени ИсФ противоречивы [10, 14]. В проведенном нами исследовании, так же, как и в исследовании D.Y. Chang и соавт. [14] не выявлено связи между степенью ИсФ и исходом почечного заболевания ($p>0,05$).

Одной из важных характеристик МИГН стала оценка ИП, наиболее точно отражающего ЭП в клубочках почек. Поскольку при $ИП \leq 1,5$ наблюдались случаи с сохраненной почечной функцией на момент НБ, именно данная точка была выбрана для разделения на подгруппы с целью определения влияния на исход почечной функции. В ходе исследования было установлено, что для второй группы ($ИП > 1,5$) характерен более высокий риск снижения функции до терминальной ХПН и летального исхода, но, с другой стороны, в 1,5 раза чаще наблюдались случаи с сохранением и восстановлением функции почек (рис. 4), что может быть связано с

хорошим ответом на иммуносупрессию у пациентов с активным ЭП повреждением. В любом случае в данном направлении требуются более углубленные исследования.

Заключение

1. МИГН является заболеванием с вариабельной клинической картиной, что значительно затрудняет диагностику, а НБ иногда проводится с опозданием при наличии у пациента терминальной стадии ХПН. Наиболее частым клиническим проявлением МИГН было развитие БППН, частота которого не зависела от того, диффузной или фокальной была ЭП при гистологическом исследовании ($p>0,05$).

2. По гендерно-возрастной характеристике МИГН с полулуниями в клубочках почек в 2,3 раза чаще наблюдался у женщин, почти половину пациентов (48,5%) составляли лица старше 50 лет, причем с увеличением возраста отмечалось повышение удельного веса лиц женского пола ($p>0,05$). Случаи с фокальной и диффузной ЭП в клубочках также были распределены примерно поровну (48,5% и 51,5% соответственно).

3. Внутригрупповое сравнение случаев МИГН по клинико-морфологическим показателям не выявило различий ни в зависимости от возраста, ни от степени ЭП. Системные проявления васкулита наблюдались у 60,6% пациентов и были ассоциированы с летальными случаями и менее выраженной ПУ ($p=0,0013$). Исследованные группы не различались также по показателям кумулятивной выживаемости при оценке почечной функции. Оценка выраженности склеротических изменений клубочков и ИсФ не продемонстрировала различий в исходах в зависимости от функции почек ($p>0,05$).

4. Анализ случаев в зависимости от ИП пока-

зал, что при $\text{ИП} > 1,5$ риск летального исхода возрастает в 2,3 раза (95% ДИ (1,16–4,58)), а риск прогрессирования заболевания до развития терминальной стадии ХПН, требующей ПЗТ (диализ и трансплантация почки), – в 4,6 раза (95% ДИ (2,46–8,59)). Случаи с показателем $\text{ИП} \leq 1,5$ характеризовались достоверно более медленным снижением функции почек без развития терминальной ХПН (ОР-2,61, 95% ДИ (1,76–3,86)). Анализ показателя выживаемости у пациентов с МИГН продемонстрировал неуклонное снижение функции почек. Так, в течение одного года функция сохранялась у 67% пациентов, в течение 3-х лет – у 38%, а в течение 5 лет лишь у 14%. 80% летальных исходов наступило в течение первых четырех месяцев.

Литература

1. Rogers, T. E. Glomerular diseases associated with nephritic syndrome and/or rapidly progressive glomerulonephritis / T. E. Rogers, D. Rakheja, X. J. Zhou // *Silva's diagnostic renal pathology* / ed.: X. J. Zhou [et al.]. – Cambridge : Cambridge University Press, 2009. – Ch. 6. – P. 178–228.
2. 2012 Revised International Chapel Hill Consensus Conference Nomenclature of Vasculitides / J. C. Jennette [et al.] // *Arthritis Rheum.* – 2013 Jan. – Vol. 65, N 1. – P. 1–11.
3. Heptinstall's Pathology of the Kidney / ed.: J. C. Jennette [et al.]. – 6th ed. – Philadelphia : Lippincott Williams & Wilkins, 2007. – 2 vol.
4. Чиж, К. А. Быстро прогрессирующий гломерулонефрит / К. А. Чиж // *Мед. новости.* – 2005. – № 7. – С. 5–10.
5. Jennette, J. C. Rapidly progressive crescentic glomerulonephritis / J. C. Jennette // *Kidney Int.* – 2003 Mar.

- Vol. 63, N 3. – P. 1164–1177.
6. The clinical spectrum of primary renal vasculitis / M. Samarkos [et al.] // *Semin. Arthritis Rheum.* – 2005 Oct. – Vol. 35, N 2. – P. 95–111.
7. Histopathologic classification of ANCA-associated glomerulonephritis / A. E. Berden [et al.] // *J. Am. Soc. Nephrol.* – 2010 Oct. – Vol. 21, N 10. – P. 1628–1636.
8. Бекетова, Т. В. Алгоритм диагностики системных васкулитов, ассоциированных с антинейтрофильными цитоплазматическими антителами / Т. В. Бекетова // *Терапевт. архив.* – 2018. – Т. 90, № 5. – С. 13–21.
9. The Oxford classification of IgA nephropathy: pathology definitions, correlations, and reproducibility / I. S. Roberts [et al.] // *Kidney Int.* – 2009 Sep. – Vol. 76, N 5. – P. 546–556.
10. Histopathologic and clinical predictors of kidney outcomes in ANCA-associated vasculitis / S. L. Ford [et al.] // *Am. J. Kidney Dis.* – 2014 Feb. – Vol. 63, N 2. – P. 227–235.
11. Prognostic Factors in Crescentic Glomerulonephritis: A Single-Center Experience / R. Ozturk [et al.] // *Iran. J. Kidney Dis.* – 2015 Jan. – Vol. 9, N 1. – P. 31–38.
12. ANCA-associated glomerulonephritis in the very elderly / A. S. Bomback [et al.] // *Kidney Int.* – 2011 Apr. – Vol. 79, N 7. – P. 757–764.
13. Evaluation of the newly proposed simplified histological classification in Japanese cohorts of myeloperoxidase-anti-neutrophil cytoplasmic antibody-associated glomerulonephritis in comparison with other Asian and European cohorts / E. Muso [et al.] // *Clin. Exp. Nephrol.* – 2013 Oct. – Vol. 17, N 5. – P. 659–662.
14. Re-evaluation of the histopathologic classification of ANCA-associated glomerulonephritis: a study of 121 patients in a single center / D. Y. Chang [et al.] // *Nephrol. Dial. Transplant.* – 2012 Jun. – Vol. 27, N 6. – P. 2343–2349.
15. Renal histopathology and clinical course in 94 patients with Wegener's granulomatosis / K. Aasard [et al.] // *Nephrol. Dial. Transplant.* – 2001 May. – Vol. 16, N 5. – P. 953–960.

Поступила 20.09.2018 г.

Принята в печать 29.11.2018 г.

References

1. Rogers TE, Rakheja D, Zhou XJ. Glomerular diseases associated with nephritic syndrome and/or rapidly progressive glomerulonephritis. In: Zhou XJ, Laszik Z, Nadasdy T, D'Agati VD, Silva FG, ed. *Silva's diagnostic renal pathology*. Cambridge: Cambridge University Press; 2009. Ch 6. P. 178–228.
2. Jennette JC, Falk RJ, Bacon PA, Basu N, Cid MC, Ferrario F, et al. 2012 Revised International Chapel Hill Consensus Conference Nomenclature of Vasculitides. *Arthritis Rheum.* 2013 Jan;65(1):1–11. doi: 10.1002/art.37715.
3. Jennette JC, D'Agati VD, Olson JL, Silva FG. *Heptinstall's Pathology of the Kidney*. 6th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2007. 2 vol.
4. Chizh KA. Rapidly progressive glomerulonephritis. *Med Novosti.* 2005;(7):5–10. (In Russ.)
5. Jennette JC. Rapidly progressive crescentic glomerulonephritis. *Kidney Int.* 2003 Mar;63(3):1164–77. doi: 10.1046/j.1523-1755.2003.00843.x
6. Samarkos M, Loizou S, Vaiopoulos G, Davies KA. The

- clinical spectrum of primary renal vasculitis. *Semin Arthritis Rheum.* 2005 Oct;35(2):95–111. doi: 10.1016/j.semarthrit.2005.05.004
7. Berden AE, Ferrario F, Hagen EC, Jayne DR, Jennette JC, Joh K, et al. Histopathologic classification of ANCA-associated glomerulonephritis. *J Am Soc Nephrol.* 2010 Oct;21(10):1628–36. doi: 10.1681/ASN.2010050477
8. Beketova TV. Algorithm for diagnosing systemic vasculitis associated with anti-neutrophil cytoplasmic antibodies. *Terapevt Arkhiv.* 2018;90(5):13–21. (In Russ.)
9. Roberts IS, Cook HT, Troyanov S, Alpers CE, Amore A, Barratt J, et al. The Oxford classification of IgA nephropathy: pathology definitions, correlations, and reproducibility. *Kidney Int.* 2009 Sep;76(5):546–56. doi: 10.1038/ki.2009.168
10. Ford SL, Polkinghorne KR, Longano A, Dowling J, Dayan S, Kerr PG, et al. Histopathologic and clinical predictors of kidney outcomes in ANCA-associated vasculitis. *Am J Kidney Dis.* 2014 Feb;63(2):227–35. doi: 10.1053/j.ajkd.2013.08.025
11. Ozturk R, Yenigun EC, Dede F, Koc E, Turgut D, Piskinpasa SV, et al. Prognostic Factors in Crescentic

- Glomerulonephritis: A Single-Center Experience. Iran J Kidney Dis. 2015 Jan;9(1):31-8.
12. Bomback AS, Appel GB, Radhakrishnan J, Shirazian S, Herlitz LC, Stokes B, et al. ANCA-associated glomerulonephritis in the very elderly. Kidney Int. 2011 Apr;79(7):757-64. doi: 10.1038/ki.2010.489
13. Muso E, Endo T, Itabashi M, Kakita H, Iwasaki Y, Tateishi Y, et al. Evaluation of the newly proposed simplified histological classification in Japanese cohorts of myeloperoxidase-anti-neutrophil cytoplasmic antibody-associated glomerulonephritis in comparison with other Asian and European cohorts. Clin Exp Nephrol. 2013 Oct;17(5):659-662. doi: 10.1007/s10157-012-0755-7
14. Chang DY, Wu LH, Liu G, Chen M, Kallenberg CG, Zhao MH. Re-evaluation of the histopathologic classification of ANCA-associated glomerulonephritis: a study of 121 patients in a single center. Nephrol Dial Transplant. 2012 Jun;27(6):2343-9. doi: 10.1093/ndt/gfr643
15. Aasarød K, Bostad L, Hammerstrøm J, Jørstad S, Iversen BM. Renal histopathology and clinical course in 94 patients with Wegener's granulomatosis. Nephrol Dial Transplant. 2001 May;16(5):953-60.

Submitted 20.09.2018

Accepted 29.11.2018

Сведения об авторах:

Дмитриева М.В. – врач-патологоанатом, патологоанатомическое отделение общей патологии №1, Городское клиническое патологоанатомическое бюро;

Летковская Т.А. – к.м.н., доцент, заведующая кафедрой патологической анатомии, Белорусский государственный медицинский университет;

Чиж К.А. – к.м.н., доцент 2-й кафедры внутренних болезней, Белорусский государственный медицинский университет;

Брагина З.Н. – к.м.н., доцент кафедры патологической анатомии, Белорусский государственный медицинский университет.

Information about authors:

Dmitrieva M.V. – pathologist of the pathoanatomical department of general pathology No. 1, City Clinical Pathologoanatomic Bureau;

Letkovskaya T.A. – Candidate of Medical Sciences, associate professor, head of the Chair of Pathologic Anatomy, Belarusian State Medical University;

Chyzh K.A. – Candidate of Medical Sciences, associate professor of the Chair of Internal Diseases No. 2, Belarusian State Medical University;

Bragina Z.N. – Candidate of Medical Sciences, associate professor of the Chair of Pathologic Anatomy, Belarusian State Medical University.

Адрес для корреспонденции: Республика Беларусь, 220045, г. Минск, ул. Семашко, 8/8, Городское клиническое патологоанатомическое бюро. E-mail: mvdmitrieva@inbox.ru – Дмитриева Маргарита Владимировна.

Correspondence address: Republic of Belarus, 220045, Minsk, 8/8 Semashko str., City Clinical Patologoanatomic Bureau. E-mail: mvdmitrieva@inbox.ru – Margarita V. Dmitrieva.

ТЕЧЕНИЕ МУКОВИСЦИДОЗА У ДЕТЕЙ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ МУТАЦИЙ ГЕНОВ-МОДИФИКАТОРОВ ВОСПАЛЕНИЯ ИНТЕРЛЕЙКИНА-4 И ИНТЕРЛЕЙКИНА-10

КЛИМЕНКО В.А., ДРОБОВА Н.Н.

Харьковский национальный медицинский университет, г. Харьков, Украина

Вестник ВГМУ. – 2018. – Том 17, №6. – С. 77-84.

CYSTIC FIBROSIS COURSE IN CHILDREN DEPENDING ON THE MUTATIONS OF INTERLEUKIN-4 AND INTERLEUKIN-10 INFLAMMATION MODIFIER GENES

KLYMENKO V.A., DROBOVA N.N.

Kharkov National Medical University, Kharkov, Ukraine

Vestnik VGMU. 2018;17(6):77-84.

Резюме.

Цель – усовершенствование оказания медицинской помощи больным муковисцидозом (МВ) путем уточнения прогноза заболевания на основании определения патогенетической роли полиморфизма генов-модификаторов воспаления интерлейкина (ИЛ) -4 и ИЛ-10.

Материал и методы. 42 ребенка с диагнозом МВ обследованы по стандартной методике согласно действующим национальным протоколам оказания медицинской помощи. Определение полиморфизмов генов ИЛ-4 C589T и ИЛ-10 G1082A проведено с помощью полимеразной цепной реакции в реальном времени. ДНК выделено из клеток буккального эпителия.

Результаты. Основную группу составили 12 больных, у которых мутации генов интерлейкинов 4 и 10 присутствуют в гомо- или гетерозиготном состоянии, контрольную группу – 17 пациентов без мутаций генов. Для основной группы характерно: ранняя манифестация (преимущественно в периоде новорожденности) гастроинтестинальных симптомов, более тяжелая степень поражения дыхательной системы с ранней колонизацией *Staphylococcus aureus* (83,4%; 35,2%; $p<0,05$ – для основной и контрольной групп соответственно) и *Candida albicans* (66,7%; 29,4%; $p<0,05$), развитие пневмофиброза (91,6%; 41,2; $p<0,05$) и бронхоэктаз (75,0%; 5,8%; $p<0,05$), частое формирование цирроза печени (50%; 0%; $p<0,05$). Со стороны системного иммунитета для данного фенотипа МВ характерно повышение уровня общего IgE 389,55 (46,42; 662,53) МЕ/мл, снижение уровня теста с нитросиним тетразолием спонтанного, индекса активности нейтрофилов спонтанного.

Заключение. Охарактеризованы особенности течения МВ у детей в зависимости от наличия двух мутантных аллелей генов цитокинов ИЛ-4 (C589T) и ИЛ-10 (G1082A).

Ключевые слова: дети, муковисцидоз, клинико-параклиническое обследование, полиморфизм, ген интерлейкина-4, ген интерлейкина-10.

Abstract.

Objectives. To improve the provision of medical care for patients with cystic fibrosis (CF) by clarifying the pathogenetic role of the interleukin-4 (IL) and IL-10 inflammation modifier genes polymorphism in the course of the disease.

Material and methods. Forty-two children with CF were examined. The examination was carried out by means of the standard methods in the remission period. The determination of C589T polymorphism of the IL-4 gene and G1082A polymorphism of the IL-10 gene was carried out using polymerase chain reaction in real time. DNA was isolated from buccal epithelium cells.

Results. Clinical and paraclinical features were studied in the main group of children with IL-4 gene and IL-10 gene mutations (homozygous or heterozygous) and compared to those of patients without any mutations in these genes (control group). The early manifestation of gastrointestinal symptoms (in an infant period predominantly), more severe course

of CF (with early *Staphylococcus aureus* (83,4% vs 35,2%; $p<0,05$) and *Candida albicans* (66,7% vs 29,4%; $p<0,05$) colonization of the tracheobronchial tree, bronchiectasis (75,0% vs 5,8%; $p<0,05$) and lung fibrosis (91,6% vs 41,2%; $p<0,05$), severe liver lesions (50% vs 0%; $p<0,05$)) were found. The immune status was characterized by the increase of the total serum IgE 389,55 (46,42; 662,53) IU/ml, the decrease in the level of spontaneous nitroblue tetrazolium test and spontaneous index of activated neutrophils test.

Conclusions. CF phenotype associated with C589T polymorphism of the IL-4 gene and G1082A polymorphism of the IL-10 gene has been characterized.

Key words: children, cystic fibrosis, clinical and paraclinical examination, polymorphism, interleukin-4 gene, interleukin-10 gene.

Муковисцидоз (МВ) является одним из наиболее распространенных фатальных наследственных аутосомно-рецессивных заболеваний среди представителей европеоидной расы, обусловленных мутацией гена трансмембранного регулятора МВ (англ. Cystic Fibrosis Transmembrane conductance Regulator – CFTR) [1].

После открытия гена CFTR в 1989 году большое количество клинических исследований было посвящено изучению фенотипов МВ в зависимости от различных мутаций гена. В настоящее время описано более 1900 мутаций CFTR, которые разделяются на 5 классов [2, 3]. Для многих мутаций не только описаны клинические особенности МВ, но и предложены современные терапевтические стратегии с учетом генетического дефекта. Так, например, для мутаций III класса (типа G551D) доказана эффективность препарата «Kalydeco», а при мутации F508del в гомозиготном состоянии рекомендовано применение «Orkambi» (Ivacaftor/lumacaftor) [4].

Дальнейшее наблюдение за больными продемонстрировало значительную изменчивость клинического течения МВ у пациентов с одинаковой мутацией гена CFTR, что стало началом нового этапа генетических исследований при МВ – поиск других причинных патогенетических факторов, среди которых выделяют «гены-модификаторы» [1, 5].

Например, De Vries L., 2014, наблюдал различные течения МВ и развитие таких патологических состояний, как меконияльный илеус, тяжесть панкреатической недостаточности, тяжесть поражения легких у пациентов с мутацией CFTR одного типа (delF508) в зависимости от полиморфизма генов фактора некроза опухоли- α , интерлейкина-6 (ИЛ) и переносчика растворимых веществ семейства 26 член 9 (SLC26A9) [6].

В «Консенсусе по использованию и интерпретации мутаций гена МВ в клинической практике» отмечено, что с 1998 года опубликовано более 30 научных исследований о влиянии различных

«генов-модификаторов». Доказан эффект мутаций генов трансформирующего фактора роста.

Цель работы – изучить клинические и параклинические особенности детей с МВ в зависимости от полиморфизма генов ИЛ-4 и ИЛ-10.

Материал и методы

Исследование проведено на базе пульмонологического отделения КУОЗ «Областная детская клиническая больница №1» в 2015-2017 гг. Обследование больных проводилось согласно приказам МОЗ Украины от 29.01.2013 №59 «Об утверждении унифицированных клинических протоколов оказания медицинской помощи детям с заболеваниями органов пищеварения», от 15.07.2016 № 723 «Об утверждении унифицированного клинического протокола первичной, вторичной (специализированной) и третичной (высокоспециализированной) медицинской помощи «Муковисцидоз». Под наблюдением находилось 42 ребенка с диагнозом МВ. Определение полиморфизма генов ИЛ-4 C589T и ИЛ-10 G1082A проводили с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР) в режиме реального времени. ДНК выделяли из клеток буккального эпителия с помощью специального набора «ДНК-ЭКСПРЕСС» (фирма «Литех»).

Определение системного иммунитета (CD3, CD4, CD8, CD16, CD 22, CD25, IgA, IgM, IgG, циркулирующие иммунные комплексы, фагоцитоз, комплемент) проводилось традиционными методиками согласно приказу МОЗ Украины от 19.11.2002 №422 «О дальнейшем развитии клинической иммунологии в Украине». Общий иммуноглобулин Е (IgE) в сыворотке крови определялся с помощью иммуноферментного анализа («сэндвич»-метод).

Контрольную группу составили 54 практически здоровых ребенка, рандомизированных по возрасту. Исследование проведено с соблюдением прав человека в соответствии с действующим в

Украине законодательством, соответствует международным этическим требованиям и не нарушает этических норм в науке и стандартов проведения биомедицинских исследований.

Результаты обработаны с помощью программы IBM SPSS Statistics методами непараметрической статистики, статистически достоверной считали разницу между показателями при $p < 0,05$.

Результаты

Под наблюдением находилось 42 ребенка с диагнозом МВ. Медиана (Me) и интерквартильные интервалы (Q1; Q3) возраста больных составили 9,0 (4,0; 13,0) лет. Среди больных преобладали мальчики (66,7%). Распределение больных в зависимости от наличия мутаций генов ИЛ-4 и ИЛ-10 представлены в таблице 1 и рисунке 1.

Установлено, что 17 (40,5%) пациентов не имеют мутации в данных генах воспаления, и 12 (28,5%) детей имеют мутации в гомо- или гетерозиготном состоянии обоих исследуемых генов. Чаще встречаются мутации гена ИЛ-10 (52,4%) по сравнению с ИЛ-4 (35,7%). В контрольной группе 34 (63%) ребенка не имеют мутаций генов, 19 (35,2%) – имеют мутацию одного из исследуемых генов – ИЛ-4 ($n=8$) или ИЛ-10 ($n=11$); 1 (1,8%) ребенок имеет мутации в обоих генах.

С целью определения влияния полиморфизма генов ИЛ-4 и ИЛ-10 на течение МВ выделены больные, у которых мутации в гомо- или гетерозиготном состоянии обоих генов (12 детей – основная группа), и больные, которые не имеют мутаций (17 пациентов – группа сравнения). Проведена статистическая оценка различий клинико-параclinical признаков МВ у больных данных групп.

В обеих группах преобладали мальчики (58,4% и 70,5%; $p > 0,05$ в основной и сравнитель-

ной группах соответственно). Медиана и интерквартильные интервалы возраста больных в группах составили 8,0 (3,0; 13,0) лет и 9,0 (7,0; 14,0) лет ($p > 0,05$) соответственно.

Манифестация МВ в обеих группах представлена, в основном, гастроинтестинальными признаками (75,0% и 70,5% соответственно, $p > 0,05$), но у детей основной группы отмечена достоверно ($p < 0,05$) более ранняя манифестация – в период новорожденности, тогда как в группе сравнения – в грудном возрасте. Вероятность различия также подтверждена расчетом коэффициента ранговой корреляции Спирмена ($r = -0,45$; $p < 0,05$). Манифестация респираторных симптомов отмечена преимущественно в периодах грудного и раннего возраста без достоверной разницы между группами. Сроки манифестации гастроинтестинальных и респираторных симптомов представлены на рисунке 2.

Изучение клинических особенностей пациентов с наличием мутаций воспалительных генов выявило более тяжелое течение МВ у этих больных. Так, фиброзные изменения легких отмечены в 91,6% (в группе сравнения – 41,2%; $p < 0,01$), бронхоэктазы – в 75,0% (в группе сравнения – 5,8%; $p < 0,001$).

У детей старше 5 лет при наличии комплаенса была исследована функция внешнего дыхания (ФВД), что объективизировало выводы и подтвердило неблагоприятный прогноз по поражению легких у пациентов с мутациями исследуемых генов – результаты представлены в таблице 2.

В бактериологическом пейзаже мокроты и промывных вод бронхов у пациентов основной группы чаще определялись патогены: *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) – 83,4%; 35,2%; $p < 0,05$; *Candida albicans* – 66,7%; 29,4%; $p < 0,05$; *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*) – 41,6%; 11,8%; $p > 0,05$ – у больных основной группы и

Таблица 1 – Распределение больных муковисцидозом в зависимости от мутаций гена интерлейкина-4 C589T и гена интерлейкина-10 G1082A

Генотип	Основная группа, n=42		Контрольная группа, n=54	
	Абс.	%	Абс.	%
CC	27	64,3*	45	83,3
CT	11	26,2*	8	14,8
TT	4	9,5*	1	1,9
Всего	42	100	54	100
GG	20	47,6*	42	77,8
GA	16	38,2*	10	18,5
AA	6	14,2*	2	3,7
Всего	42	100	54	100

Примечание: * $p < 0,05$ – сравнение с контрольной группой.

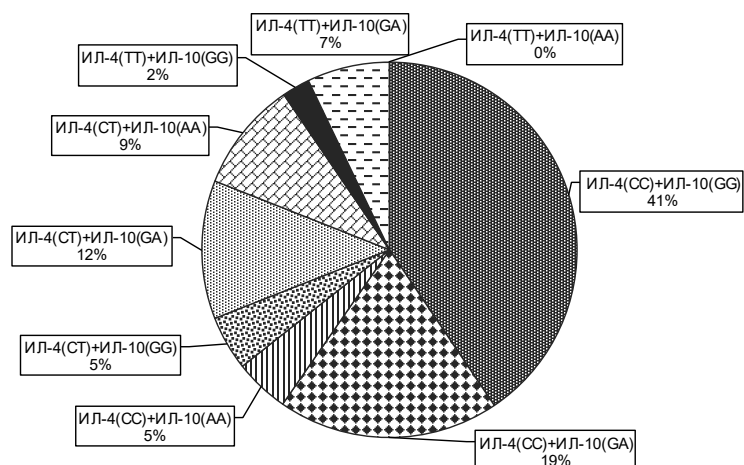


Рисунок 1 – Распределение мутаций генов интерлейкина-4 и интерлейкина-10 у детей, больных муковисцидозом.

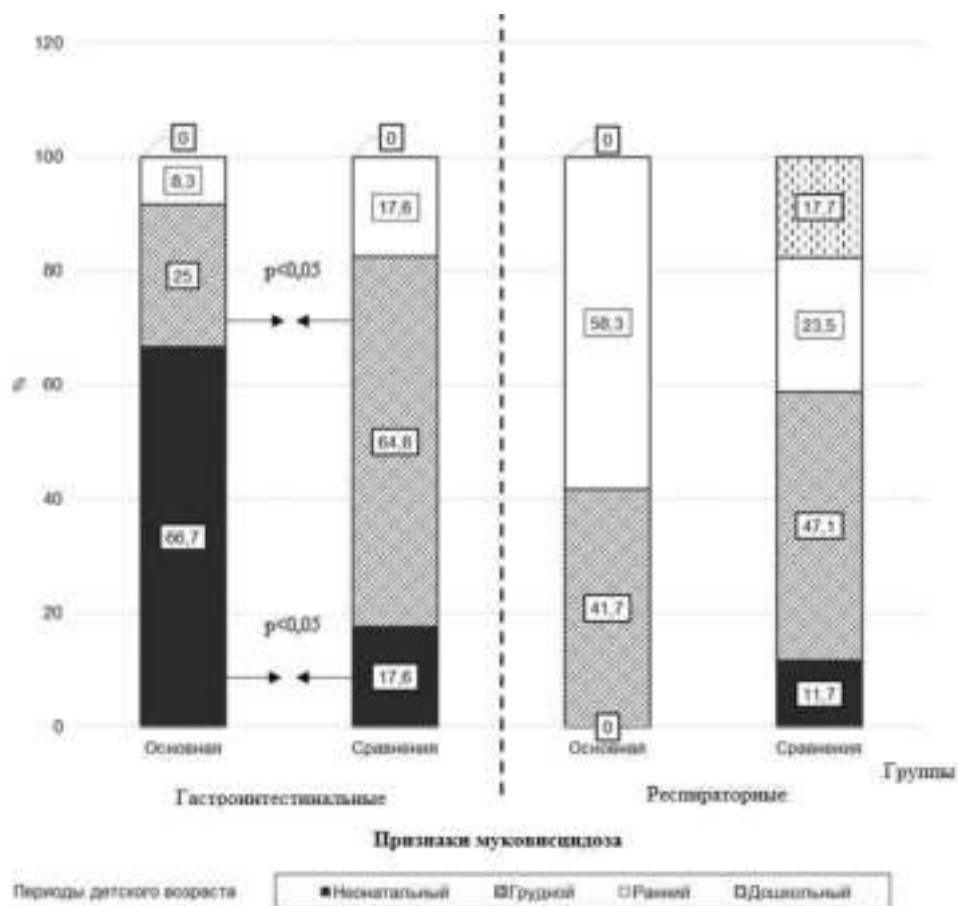


Рисунок 2 – Сроки манифестации гастроинтестинальных и респираторных симптомов у больных муковисцидозом в зависимости от наличия мутаций генов интерлейкина-4 и интерлейкина-10.

группы сравнения соответственно.

Степень поражения паренхимы печени больных в зависимости от наличия мутаций генов отражено на рисунке 3 – 50% детей основной группы имели цирротические изменения паренхимы печени ($p < 0,01$).

Исследование показателей иммунного статуса в зависимости от наличия мутантных аллелей ИЛ-4 и ИЛ-10 показало достоверное повышение уровня общего IgE – 389,55 (46,42; 662,53) МЕ/мл против 43,63 (16,25; 70,4) МЕ/мл ($p < 0,01$), снижение уровня теста с нитросиним тетразолием (НСТ)

Таблица 2 – Показатели функции внешнего дыхания в зависимости от наличия мутаций генов интерлейкина-4 и интерлейкина-10

Показатели ФВД	Основная группа, n=10	Группа сравнения, n=17	Корреляция в зависимости от наличия мутации, n=27
	Me (Q ₁ ; Q ₃)		Коэффициент (r)
ЖЕЛ, %	67,0 (62,0;70,5)**	79,5 (69,75;82,25)	-0,635**
ФЖЕЛ, %	66,0 (59,0;70,5)**	79,0 (69,0;83,75)	-0,653**
ОФВ ₁ , %	70,5 (68,0;75,5)*	82,0 (71,0;83,5)	-0,529*
ОФВ ₁ /ЖЕЛ, %	100,0 (86,0;106,5)	102,0 (90,0;114,0)	-0,229

Примечание: * – p<0,05; ** – p<0,01.

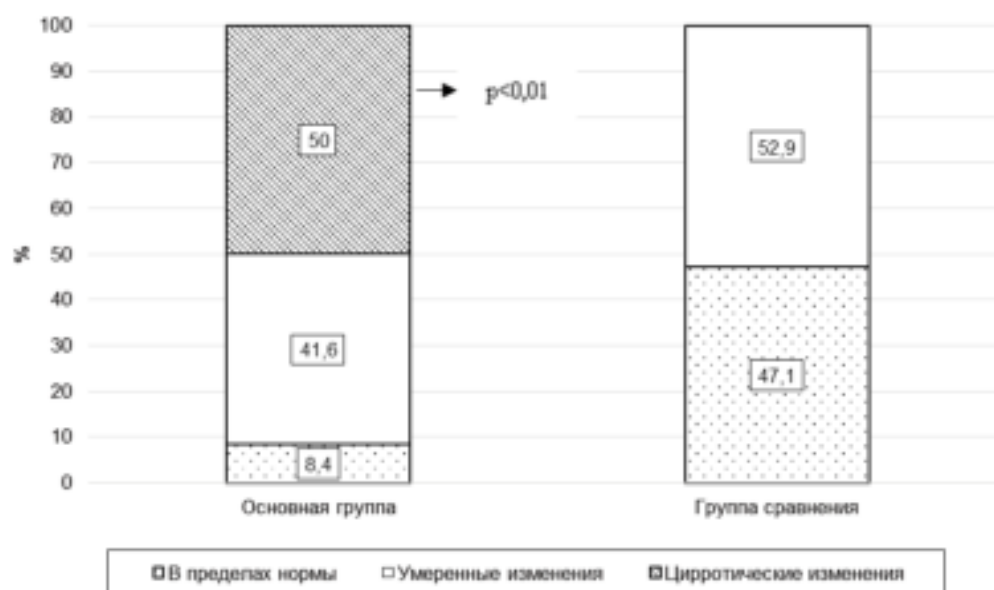


Рисунок 3 – Поражение паренхимы печени в зависимости от мутаций генов интерлейкина-4 и интерлейкина-10.

спонтанного, индекса активности нейтрофилов (ИАН) спонтанного. При сравнении с контрольной группой у пациентов с мутациями отмечается повышение CD3, CD25, ИАН стимулированного, снижение CD4, CD8 (табл. 3).

Обсуждение

В последнее время ученые уделяют большое внимание изучению влияния мутаций генов ИЛ-4 и ИЛ-10, поскольку именно для них доказан модифицирующий эффект на течение многих заболеваний. Так, было доказано, что мутация гена IL-10 (C592A) ассоциирована с развитием нефротического синдрома при хроническом гломеруло-нефрите [13].

В научной работе Li Z.P. (2014) выявлена достоверная связь между полиморфизмом C589T гена ИЛ-4 и аллергическим ринитом, что указывает на влияние данной мутации на развитие атопии [14]. Костина Е. М. и соавторы (2013) также

указывают на связь полиморфизмов генов ИЛ-4 (C589T) и ИЛ-10 (G1082A) с тяжестью течения инфекционно-зависимой бронхиальной астмы и считают, что мутации обуславливают недостаточный ответ на проведение противовоспалительной терапии [10]. А в исследовании Wang Z.D. (2013), наоборот, отрицается связь между полиморфизмом C589T гена ИЛ-4 и атопической формой бронхиальной астмы [15].

Относительно информации о влиянии мутации генов ИЛ-4 и ИЛ-10 на ход МВ, она также достаточно противоречива. Так, Сергиенко А.Д. (2011) указывает на связь мутации 3'-UTR G/C гена ИЛ-4 с тяжестью течения бронхолегочного процесса при МВ, что подтверждается достоверным снижением показателей ФВД у этих пациентов, но не обнаружено достоверных связей мутации гена с частотой инфицирования респираторного тракта (*P. aeruginosa* и *S. aureus*) [16]. Loic Guillot (2014) также указывает на отсутствие влияния мутации G1082A гена IL-10 на колонизацию *P. aeruginosa*. А

Таблица 3 – Показатели иммунного статуса детей с муковисцидозом в зависимости от мутаций генов интерлейкина-4 и интерлейкина-10

Показатель	Основная группа, n=12	Группа сравнения, n=17	p ₁	Контрольная группа, n=30	p ₂	p ₃
Лейкоциты, x10 ⁹ /л	5,95 (4,95; 7,02)	6,0 (4,9; 7,7)	>0,05	6,35 (5,47;7,0)	>0,05	>0,05
Нейтрофилы, %	47,0 (41,2; 56,0)	44,0 (37,0; 61,0)	>0,05	51,0 (48,0;63,0)	>0,05	>0,05
Лимфоциты, %	50,0 (42,5; 58,7)	51,0 (39,5; 64,0)	>0,05	43,0 (36,5;47,0)	<0,05	<0,05
CD 3, %	67,0 (63,2; 70,0)	68,0 (64,0; 69,5)	>0,05	61,0 (58,7;69,0)	<0,05	<0,05
CD 4, %	40,0 (37,2; 41,0)	39,0 (38,0;40,5)	>0,05	44,0 (39,0;48,0)	0,010	>0,05
CD 8, %	27,5 (26,2; 29,0)	28,0 (27,0; 29,0)	>0,05	30,0 (29,0; 32,0)	<0,05	<0,05
CD 16, %	12,0 (8,2; 16,0)	14,0 (10,0; 18,0)	>0,05	14,0 (13,75;15,0)	>0,05	>0,05
CD 22, %	19,5 (18,0; 22,0)	18,0 (17,0; 21,0)	>0,05	18,0 (17,0; 20,0)	>0,05	>0,05
CD 25, %	21,0 (16,5;32,7)	22,0 (18,5; 37,0)	>0,05	17,0 (14,0;22,0)	<0,05	<0,05
Фагоцитоз с латексом, %	66,0 (55,0; 70,0)	61,0 (58,5; 68,5)	>0,05	60,0 (54,0; 65,0)	>0,05	>0,05
Фагоцитарное число	3,8 (3,57; 4,1)	3,9 (3,7; 4,1)	>0,05	3,5 (3,3;3,7)	>0,05	>0,05
Общий комплемент СН 50, %	64,0 (62,0; 67,7)	63,0 (60,5; 66,0)	>0,05	48,0 (45,5; 52,0)	>0,05	>0,05
Циркулирующие иммунные комплексы с 3,5% ПЕГ, ед.	7,8 (7,15; 9,7)	7,6 (5,5; 8,6)	>0,05	7,95 (6,8; 9,5)	>0,05	>0,05
НСТ спонтанный, %	21,0 (12,5; 43,5)	28,0 (18,0; 44,5)	<0,05	30,0 (22,0; 32,0)	>0,05	>0,05
ИАН спонтанный, ед.	0,43 (0,22; 0,77)	0,58 (0,33; 0,92)	<0,05	0,58 (0,46; 0,8)	>0,05	>0,05
НСТ стимулированный, %	67,5 (62,2; 72,0)	65,0 (52,0; 69,0)	>0,05	55,0 (49,7; 70,0)	>0,05	<0,05
ИАН стимулированный, ед.	1,43 (1,24; 1,48)	1,33 (1,08; 1,49)	>0,05	1,18 (0,87; 1,29)	<0,05	0<0,05
Лизосомальные катионные белки, ед.	1,15 (0,99; 1,25)	1,18 (1,0; 1,22)	>0,05	1,12 (0,93; 1,17)	>0,05	>0,05
Ig A г/л	1,33 (1,02; 1,66)	1,42 (0,95; 1,56)	>0,05	1,22 (0,83; 1,33)	>0,05	>0,05
Ig M, г/л	0,98 (0,85; 1,18)	0,89 (0,81; 1,22)	>0,05	0,97 (0,64;1,2)	>0,05	>0,05
Ig G, г/л	10,29 (9,8; 10,58)	10,36 (10,05;10,9)	>0,05	10,09 (8,53;10,9)	>0,05	>0,05

Примечание: различия между группами: p₁ – основной и сравнения; p₂ – основной и контрольной; p₃ – сравнения и контрольной.

исследование R. Tesse (2008), наоборот, доказывает сильную достоверную связь между мутацией гена ИЛ-10 и частотой инфицирования синегнойной палочкой [17]. Наше исследование также не выявило достоверных связей распространения данного патогена в группе с наличием мутантных аллелей генов цитокинов ИЛ-4 и ИЛ-10, но доказаны более ранние сроки инфицирования *S. aureus* и *C. albicans*.

Таким образом, во всем мире проводится ряд исследований по данной проблеме, многие результаты противоречивы. В наших предыдущих работах были проанализированы клинические и параклинические особенности МВ при мутациях одного гена (ИЛ-4 или ИЛ-10) [18]. Дальнейшее исследование влияния генов-модификаторов воспаления поможет расширить представления о различных фенотипах заболевания с последующей индивидуализацией наблюдения, терапии пациентов и улучшением прогноза МВ.

Заключение

Охарактеризованы особенности течения МВ у детей в зависимости от наличия двух мутантных аллелей генов цитокинов ИЛ-4 (С589Т) и ИЛ-10 (G1082А). Для этого фенотипа МВ характерно: ранняя манифестация (преимущественно в периоде новорожденности) с гастроинтестинальными симптомами, более тяжелая степень поражения дыхательной системы с ранней колонизацией *S. aureus* (83,4%) и *C. albicans* (66,7%), развитие пневмофиброза (91,6%) и бронхоэктаз (75,0%), частое формирование цирроза печени (50%). Со стороны системного иммунитета для данного фенотипа МВ характерно повышение уровня общего IgE 389,55 (46,42;662,53) МЕ/мл, снижение НСТ спонтанного и ИАН спонтанного, что является патогенетической основой выявленных особенностей воспалительного процесса при МВ.

Литература

- Муковисцидоз / под ред. Н. И. Капанова, Н. Ю. Каширской. – М.: Медпрактика, 2014. – 672 с.
- Identification of the cystic fibrosis gene: cloning and characterization of complementary DNA / J. R. Riordan [et al.] // Science. – 1989 Sep. – Vol. 245, N 4922. – P. 1066–1073.
- Vallières, E. Cystic fibrosis gene mutations: evaluation and assessment of disease severity / E. Vallières, J. Elborn // Adv. Genom. Genet. – 2014. – Vol. 4. – P. 161–172.
- Deeks, E. D. Lumacaftor/Ivacaftor: A Review in Cystic Fibrosis / E. D. Deeks // Drugs. – 2016 Aug. – Vol. 76, N 12. – P. 1191–1201.
- Lung disease modifier genes in cystic fibrosis / L. Guillot [et al.] // Int. J. Biochem. Cell Biol. – 2014 Jul. – Vol. 52. – P. 83–93.
- Cytokine gene polymorphisms and severity of CF lung disease / L. de Vries [et al.] // J. Cyst. Fibros. – 2014 Dec. – Vol. 13, N 6. – P. 699–705.
- Histo-blood group gene polymorphisms as potential genetic modifiers of infection and cystic fibrosis lung disease severity / J. L. Taylor-Cousar [et al.] // PLoS One. – 2009. – Vol. 4, N 1. – P. e4270.
- Пузырева, Л. В. Генетический полиморфизм цитокинов: прошлое и будущее / Л. В. Пузырева, А. Д. Сафонов // Инфекция и иммунитет. – 2016. – Т. 6, № 2. – С. 103–108.
- Изучение полиморфизма генов цитокинов ИЛ4, ИЛ10, ИЛ17А и TNFα у больных с инфекционно зависимой бронхиальной астмой / Е. М. Костина [и др.] // Иммунопатология, аллергология, инфектология. – 2013. – № 1. – С. 53–58.
- Ассоциация воспалительных генов с невротизмом, тревожностью и депрессией у мужчин с ишемической болезнью сердца / В. Е. Голиббет [и др.] // Журн. неврологии и психиатрии им. С. С. Корсакова. – 2017. – Т. 117, № 3. – С. 74–79.
- Cystic fibrosis lung environment and Pseudomonas aeruginosa infection / A. Y. Bhagirath [et al.] // BMC Pulm. Med. – 2016. – Vol. 16. – P. 174.
- Kuz'mina, L. P. Role of Interleukin-4, Interleukin-10, and Tumor Necrosis Factor-α Polymorphic Genes in the Pathogenesis of Occupational Allergic Dermatoses / L. P. Kuz'mina, N. I. Izmerova, M. M. Kolyaskina // Bull. Exp. Biol. Med. – 2015 Oct. – Vol. 159, N 6. – P. 779–781.
- Клиническое значение полиморфных маркеров генов TNF, IL6 и IL10 при хроническом гломерулонефрите / Е. С. Камышова [и др.] // Терапевт. архив. – 2016. – № 6. – С. 45–50.
- Association between promoter polymorphisms of interleukin-4 gene and allergic rhinitis risk: a meta-analysis / Z. P. Li [et al.] // J. Huazhong Univ. Sci. Technol. Med. Sci. – 2014 Jun. – Vol. 34, N 3. – P. 306–313.
- Association between the interleukin-4, interleukin-13 polymorphisms and asthma: a meta-analysis / Z. D. Wang [et al.] // Mol. Biol. Rep. – 2013 Feb. – Vol. 40, N 2. – P. 1365–1376.
- Сергиенко, Д. Ф. Влияние генетических полиморфизмов на течение муковисцидоза у детей / Д. Ф. Сергиенко // Астрахан. мед. журн. – 2010. – Т. 5, № 4. – С. 92–96.
- Association of interleukin-10 gene haplotypes with Pseudomonas aeruginosa airway colonization in cystic fibrosis / R. Tesse [et al.] // J. Cyst. Fibros. – 2008 Jul. – Vol. 7, N 4. – P. 329–332.
- Drobova, N. M. Features of cystic fibrosis course in children depending on interleukin-4 gene mutation / N. M. Drobova // Inter Collegas. – 2018. – Vol. 5, N 2. – P. 73–79.

Поступила 10.09.2018 г.

Принята в печать 29.11.2018 г.

References

1. Kapranov NI, Kashirskiy NYu, red. Mucoviscidosis. Moscow, RF: Medpraktika, 2014. 672 p. (In Russ.)
2. Riordan JR, Rommens JM, Kerem B, Alon N, Rozmahel R, Grzelczak Z, et al. Identification of the cystic fibrosis gene: cloning and characterization of complementary DNA. *Science*. 1989 Sep;245(4922):1066-73.
3. Vallières E, Elborn J. Cystic fibrosis gene mutations: evaluation and assessment of disease severity. *Adv Genom Genet*. 2014;4:161-72. doi: 10.2147/AGG.S53768
4. Deeks ED. Lumacaftor/Ivacaftor: A Review in Cystic Fibrosis. *Drugs*. 2016 Aug;76(12):1191-201. doi: 10.1007/s40265-016-0611-2
5. Guillot L, Beucher J, Tabary O, Le Rouzic P, Clement A, Corvol H. Lung disease modifier genes in cystic fibrosis. *Int J Biochem Cell Biol*. 2014 Jul;52:83-93. doi: 10.1016/j.biocel.2014.02.011
6. de Vries L, Griffiths A, Armstrong D, Robinson PJ. Cytokine gene polymorphisms and severity of CF lung disease. *J Cyst Fibros*. 2014 Dec;13(6):699-705. doi: 10.1016/j.jcf.2014.04.007
7. Taylor-Cousar JL, Zariwala MA, Burch LH, Pace RG, Drumm ML, Calloway H, et al. Histo-blood group gene polymorphisms as potential genetic modifiers of infection and cystic fibrosis lung disease severity. *PLoS One*. 2009;4(1):e4270. doi: 10.1371/journal.pone.0004270
8. Puzyreva LV, Safonov AD. Genetic polymorphism of cytokines: past and future. *Infektsiia Immunitet*. 2016;6(2):103-8. (In Russ.)
9. Kostina EM, Molotilov BA, Levashova OA, Osipova MV. Study of cytokine gene polymorphisms in IL4, IL10, IL17A and TNFA in patients with infectious - dependent bronchial asthma. *Immunopatologiya Allergologiya Infektologiya*. 2013;(1):53-8. (In Russ.)
10. Golimbet VE, Volel' BA, Korovaytseva GI, Kasparov SV, Kondrat'yev NV, Kopylov FYu. Association of inflammatory genes with neuroticism, anxiety and depression in men with coronary heart disease. *Zhurn Nevrologii Psikhatrii im SS Korsakova*. 2017;117(3):74-9. (In Russ.)
11. Bhagirath AY, Li Y, Somayajula D, Dadashi M, Badr S, Duan K. Cystic fibrosis lung environment and *Pseudomonas aeruginosa* infection. *BMC Pulm Med*. 2016;16:174. doi: 10.1186/s12890-016-0339-5
12. Kuz'mina LP, Izmerova NI, Kolyaskina MM. Role of Interleukin-4, Interleukin-10, and Tumor Necrosis Factor- α Polymorphic Genes in the Pathogenesis of Occupational Allergic Dermatoses. *Bull Exp Biol Med*. 2015 Oct;159(6):779-81. doi: 10.1007/s10517-015-3074-7
13. Kamyshova ES, Shvetsov MYu, Kutyrina IM, Burdennyy AM, Chzhen A, Nosikov VV, i dr. Clinical significance of polymorphic markers of TNF, IL 6 and IL 10 genes in chronic glomerulonephritis. *Terapevt Arkhiv*. 2016;(6):45-50. (In Russ.)
14. Li ZP, Yin LL, Wang H, Liu LS. Association between promoter polymorphisms of interleukin-4 gene and allergic rhinitis risk: a meta-analysis. *J Huazhong Univ Sci Technolog Med Sci*. 2014 Jun;34(3):306-313. doi: 10.1007/s11596-014-1275-3
15. Wang ZD, Lian D, Shen JL, Sun R, Xu W, Xin Z, et al. Association between the interleukin-4, interleukin-13 polymorphisms and asthma: a meta-analysis. *Mol Biol Rep*. 2013 Feb;40(2):1365-76. doi: 10.1007/s11033-012-2180-0
16. Sergienko DF. Effect of genetic polymorphisms on the course of cystic fibrosis in children. *Astrakhan Med Zhurn*. 2010;5(4):92-6. (In Russ.)
17. Tesse R, Cardinale F, Santostasi T, Polizzi A, Mappa L, Manca A, et al. Association of interleukin-10 gene haplotypes with *Pseudomonas aeruginosa* airway colonization in cystic fibrosis. *J Cyst Fibros*. 2008 Jul;7(4):329-32
18. Drobova NM. Features of cystic fibrosis course in children depending on interleukin-4 gene mutation. *Inter Collegas*. 2018;5(2):73-9.

Submitted 10.09.2018

Accepted 29.11.2018

Сведения об авторах:

Клименко В.А. – д.м.н., профессор, заведующая кафедрой пропедевтики педиатрии №2, Харьковский национальный медицинский университет,

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6762-9650>;

Дробова Н.Н. – аспирант кафедры пропедевтики педиатрии №2, Харьковский национальный медицинский университет,

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7493-5701>.

Information about authors:

Klymenko V.A. – Doctor of Medical Sciences, professor, head of the Chair of Pediatrics Propedeutics No. 2, Kharkov National Medical University;

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6762-9650>;

Drobova N.N. – postgraduate of the Chair of Pediatrics Propedeutics No. 2, Kharkov National Medical University.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7493-5701>.

Адрес для корреспонденции: Украина, 61022, г. Харьков, пр. Науки, 4, Харьковский национальный медицинский университет, кафедра пропедевтики педиатрии №2. E-mail: dn88n5@gmail.com – Дробова Надежда Николаевна.

Correspondence address: Ukraine, 61022, Kharkov, 4 Nauky ave., Kharkov National Medical University, Chair of Pediatrics Propedeutics No. 2. e-mail: dn88n5@gmail.com – Nadezhda N. Drobova.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ IV ФАЗЫ ISAAC (INTERNATIONAL STUDY OF ASTHMA AND ALLERGY IN CHILDHOOD) В ХАРЬКОВСКОМ РЕГИОНЕ

КЛИМЕНКО В.А., КАРПУШЕНКО Ю.В., КОЖИНА О.С.

Харьковский национальный медицинский университет, г. Харьков, Украина

Вестник ВГМУ. – 2018. – Том 17, №6. – С. 85-91.

THE RESULTS OF THE PHASE IV STUDY OF ISAAC (INTERNATIONAL STUDY OF ASTHMA AND ALLERGY IN CHILDHOOD) IN KHARKOV REGION

KLYMENKO V.A., KARPUSHENKO J.V., KOZHYNA O.S.

Kharkov National Medical University, Kharkov, Ukraine

Vestnik VGMU. 2018;17(6):85-91.

Резюме.

Цель работы – совершенствование диагностики бронхиальной астмы в детской популяции Украины путем имплементации IV фазы ISAAC (International Study of Asthma and Allergy in Childhood).

Материал и методы. Впервые в Украине в Харьковском регионе в 2015-2018 годах выполнена IV фаза Международной программы ISAAC в рамках международного сотрудничества с организацией Global Asthma Network. По стандартизированной методике ISAAC проведено анкетирование 5926 учащихся г. Харькова и 6330 учеников районов Харьковской области (всего – 12256 детей) с целью выявления распространенности и тяжести респираторных симптомов бронхиальной астмы. Для выявления динамики распространенности и тяжести астмы в детской популяции Харьковщины проведено сравнение с результатами I фазы (Огнев В.А., 1998) и III фазы исследования ISAAC (Огнев В.А., 2002). Для выявления клинических особенностей БА у детей на современном этапе проведено обследование 70 пациентов с БА согласно унифицированному клиническому протоколу первичной, вторичной (специализированной), третичной (высокоспециализированной) медицинской помощи «Бронхиальная астма у детей», утвержденному приказом МОЗ Украины от 08.10.2013 № 868.

Результаты. Среди учеников, получивших анкеты, отказались от участия в исследовании 675 детей, что составило 5,5%. Проанализированы ответы на анкеты 6659 детей 6-7 лет (среди которых 3238 жителей города и 3421 житель районов области) и 4922 подростка 13-14 лет (2197 и 2725 жителей города и районов соответственно). Актуальная распространенность свистящего дыхания среди детей 6-14 лет в Харьковском регионе составляет 4,5% без достоверной разницы между жителями города и сельской местности. Тяжелые формы БА на современном этапе встречаются редко (до 0,7%). Показатели распространенности и тяжести бронхиальной астмы в Украине являются средними для региона Северной и Восточной Европы. За последние 20 лет отмечены тенденции к уменьшению как распространенности (в 2 раза), так и тяжести (в 3 раза) свистящего дыхания. Как в городе (1,6%), так и в сельской местности (0,5%) остается низкой диагностика астмы. Охарактеризованы основные клинические особенности бронхиальной астмы у 70 детей, получающих обследование и лечение по современным международным стандартам.

Заключение. Имплементация международной программы ISAAC позволяет улучшить раннюю диагностику астмы.

Ключевые слова: дети, бронхиальная астма, распространенность, Харьковский регион, ISAAC.

Abstract.

Objectives. The improve bronchial asthma diagnosing in pediatric population of Ukraine by means of ISAAC (International Study of Asthma and Allergy in Childhood) phase IV implementation.

Material and methods. For the first time in Ukraine in 2015-2018 in Kharkov Region phase IV of the International program ISAAC was realized within the frames of the international co-operation with Global Asthma Network Organization. In accordance with ISAAC's standardized techniques 5926 schoolchildren in Kharkov and 6330 schoolchildren in the

districts of Kharkov Region (12256 children in total) were questioned in order to estimate the prevalence and severity of bronchial asthma respiratory symptoms. The results of phase IV were compared with those received during phase I (Ognev V.A., 1998) and phase III (Ognev V.A., 2002) of ISAAC to reveal the dynamics of the prevalence and severity of bronchial asthma in pediatric population of Kharkov Region. 70 patients with bronchial asthma were examined according to the national guideline – unified clinical protocol of primary, secondary (specialized), tertiary (highly specialized) medical care «Bronchial asthma in children», approved by the order of the Ukrainian Ministry of Health dated 08.10.2013 No. 868. Statistical processing of the data was done using SQLite / MySQL database by parameter statistics method.

Results. 675 schoolchildren who were given questionnaires refused to take part in the study which amounted to 5,5% of the respondents. The answers of 6659 children aged from 6 to 7 years (3238 of them live in the city and 3421 live in the region's districts) and 4922 teen-agers aged from 13 to 14 years were analyzed. Actual prevalence of wheezing among 6-14 year-old children in Kharkov Region is 4,5% without any significant difference between the urban and rural dwellers. Severe forms of BA are rare in the modern period (up to 0,7%). Prevalence and severity rates of bronchial asthma in Ukraine are average for the Northern and Eastern Europe region. During the past 20 years declining tendencies in both the prevalence (2 times) and severity (3 times) of bronchial asthma were observed. Both in the city (1,6%) and in the countryside (0,5%) the level of asthma diagnosing is rather low. The main clinical features of bronchial asthma in 70 children, examined and treated in accordance with the modern international standards were described.

Conclusions. The implementation of the International program ISAAC helps to improve the early diagnosing of asthma.

Key words: children, bronchial asthma, prevalence, Kharkov Region, ISAAC.

Актуальность проблемы бронхиальной астмы (БА) обусловлена несколькими аспектами. Во-первых, астма – это самое распространенное хроническое заболевание детского возраста. Более 300 млн. человек в мире страдает астмой [1], и самая высокая ее распространенность отмечена в детском возрасте: общее количество инцидентов астмы у детей до 5 лет составляет 23 / 1,000 детей в год и уменьшается до 4,4 / 1,000 детей в возрасте 12-17 лет [2].

Научная актуальность проблемы обусловлена тем фактом, что до сих пор мы не можем вылечить больного БА. Несмотря на прогресс в понимании патогенеза болезни, наличие большого количества разнообразных эффективных лекарств как для лечения, так и для профилактики обострений, астма остается на всю жизнь со своим «хозяином». И последний пересмотр GINA 2018 констатирует, что наша цель на современном уровне развития науки – это не исцелить больного, а лишь достичь контроля над симптомами, поддерживать достаточную физическую активность, предупредить развитие обострений, обеспечить нормальную функцию и развитие легких, не допустить развития осложнений терапии [3]. От астмы умирают до 180 тыс. пациентов ежегодно [4].

Астма – тяжелое экономическое бремя как для больного, так и для общества. Финансовые расходы, ассоциированные с астмой, превышают затраты на туберкулез и СПИД вместе взятые. В Америке, например, ежегодные прямые и косвенные расходы на астму составляют US \$ 6 билли-

онов, в Великобритании – около US \$ 1,8 биллиона, а в Австралии – до US \$ 460 миллионов [4].

БА существенно влияет на качество жизни пациентов и их семей, вызывает нарушение во всех сферах – физической, эмоциональной, интеллектуальной, психической и др. [5, 6].

Решение проблемы БА возможно только усилиями всего научного интернационального сообщества. Создано много международных проектов, среди которых особый интерес вызывает программа ISAAC (International Study of Asthma and Allergy in Childhood), которая впервые была внедрена в 1991 году, а с 2012 года выполняется в рамках международного проекта Asthma Global Network.

Программа ISAAC состоит из IV фаз. Задачи I фазы – определение распространенности и тяжести астмы в различных странах мира и сравнение их между собой, что является основой для дальнейшего изучения этиологии, социальных, экологических, генетических, медицинских и других факторов, влияющих на возникновение аллергических заболеваний. Фаза II ISAAC предусматривает изучение объективных маркеров аллергии (IgE, кожный prick-тест, функция внешнего дыхания и др.), факторов риска, различных алгоритмов лечения и их связей с ведущими клиническими симптомами у пациентов в разных странах; исследования новых этиологических гипотез аллергии у детей. Фаза III ISAAC является повторением фазы I в сроки не ранее 5 лет для установления тенденции распространенности и тяжести аллергических заболеваний по центрам,

где выполнена фаза I. Фаза IV проводится с целью развития и расширения сферы применения ISAAC, изучения эпидемиологических, этиологических, патогенетических особенностей БА на основании унифицированных методик, особенно актуальна для стран с низким и средним уровнем дохода [7].

Впервые в Украине в 1997-2003 гг. на базе Харьковского национального медицинского университета проф. Огнев В.А. было проведено три фазы Международного исследования ISAAC [8]. Актуальным для Украины является проведение IV фазы.

Задания:

1. Установить распространенность респираторных симптомов БА у детей г. Харькова и области по стандартизированной методике ISAAC.
2. Провести сравнение распространенности респираторных жалоб у детей крупного промышленного города и сельской местности.
3. Выявить динамику распространенности симптомов и тяжести БА в детской популяции Харьковского региона за последние 20 лет.
4. Изучить клинико-параклинические особенности БА у детей на современном этапе.

Материал и методы

Исследование проведено в 2015-2018 годах в рамках международного сотрудничества с организацией Global Asthma Network на базе зарегистрированного центра ISAAC «Kharkiv» (идентификационный номер – 197001; координатор – проф. Огнев В.А.).

С помощью теории выборочного метода был определен минимально достаточный объем выборки для проведения исследования, при котором выборочные оценки представляли бы основные свойства генеральной совокупности [8]. Рассчитанный объем выборки составил 11581 ребенка.

По стандартизированной методике ISAAC [7] проведено анкетирование 5926 учащихся г. Харькова и 6330 учеников в школах районов Харьковской области (всего – 12256 детей).

Для выявления динамики распространенности и тяжести астмы в детской популяции Харьковщины проведено сравнение с результатами I фазы (Огнев В.А., 1998) и III фазы исследования ISAAC (Огнев В.А., 2002).

Для выявления клинических особенностей БА у детей на современном этапе проведено обследование 70 пациентов с БА согласно унифици-

рованному клиническому протоколу первичной, вторичной (специализированной), третичной (высокоспециализированной) медицинской помощи «Бронхиальная астма у детей», утвержденному приказом МОЗ Украины от 08.10.2013 № 868.

Статистическая обработка проведена с применением базы данных SQLite / MySQL методами параметрической статистики.

Исследование проведено с соблюдением международных этических норм и стандартов биомедицинских исследований.

Результаты и обсуждение

Среди учеников, получивших анкеты, отказались от участия в исследовании 675 детей, что составило 5,5%. Проанализированы ответы на анкеты 6659 детей 6-7 лет (среди которых 3238 жителей города и 3421 житель районов области) и 4922 подростка 13-14 лет (2197 и 2725 жителей города и районов соответственно). Анкетирование было проведено в 8 районах Харьковской области – Лозовском, Купянском, Волчанском, Богодуховском, Сахновщанском, Барвенковском, Дергачевском, Нововодолажском, отличающихся как географическим расположением, так и экологическими характеристиками среды для изучения этиологических и патогенетических факторов БА.

Положительные ответы на вопросы о наличии респираторных симптомов были выявлены у 865 детей г. Харькова и 792 школьников Харьковской области. Среди общего количества детей с респираторными жалобами преобладали мальчики (n=884); девочек – 773. Анализ распространенности респираторных симптомов в зависимости от возраста выявил преобладание мальчиков среди детей младшего школьного возраста (532 в сравнении с 472 девочками) и отсутствие гендерных отличий в подростковом периоде (352 мальчика и 301 девочка).

Анализ анкет ISAAC детей, проживающих в различных районах Харьковской области, выявил существенные различия в распространенности симптоматических проявлений БА. Так, распространенность свистящего дыхания среди детей составила: в Лозовском районе – 12,1% и 13,7%, Купянском – 13,2% и 7,7%, Волчанском – 15,0% и 7,0%, Богодуховском – 12,0% и 4,0%, Сахновщанском – 11,7% и 9,4%, Барвенковском – 2,8% и 10,6%, Дергачевском – 16,8% и 12,0%, Нововодолажском – 4,8% и 7,5% для школьников

6-7 и 13-14 лет соответственно. Выявлены прямые корреляционные связи между неблагоприятными экологическими факторами внешней среды и распространенностью респираторных жалоб.

Результаты ответов на все 8 вопросов о респираторных жалобах анкеты ISAAC (средние значения для детей 6-7 лет и 13-14 лет вместе) представлены в таблице 1.

Сравнение данных распространенности и тяжести респираторных симптомов показало отсутствие достоверной разницы у детей, проживающих в городе и сельской местности в Харь-

ковском регионе – аналогичные результаты были получены и в предыдущих исследованиях Огнева В.А. (1998 г. и 2002 г.). По-видимому, это можно объяснить сходными природными и экологическими характеристиками в пределах нашего региона. Единственный показатель, по которому есть существенная разница – это наличие астмы в анамнезе (вопрос №6), что характеризует диагностику заболевания. В городе в 3,2 раза выше частота БА по выявляемости, что указывает на проблемы с организацией медицинской помощи в районах области. Также и в городе, и в сельской

Таблица 1 – Результаты опроса детей Харьковского региона по программе ISAAC о симптоматических проявлениях бронхиальной астмы (в % по отношению ко всем опрошенным)

Вопросы о характере дыхания ребенка	Город Харьков			Районы области	
	2017 г.	2002 г.	1998 г.	2017 г.	1998 г.
1. Наблюдалось ли у Вас когда-нибудь свистящее или хрипящее дыхание в прошлом?	11,8% (665/5435)	24,5% (1097/4378)	24,1% (717/6282)	9,7% (601/6146)	18,2% (1282/6968)
2. Наблюдалось ли у Вас свистящее или хрипящее дыхание в течение последних 12 месяцев?	5,0% (289/5435)	16,7% (751/4378)	12,2% (362/6282)	4,0% (245/6146)	9,7% (684/6968)
3. Наблюдалось ли у Вас 4 или более приступов хрипящего дыхания за последние 12 месяцев?	0,7% (40/5435)	2,5% (109/4378)	2,3% (69/6282)	0,4% (23/6146)	1,5% (103/6968)
4. Было ли у Вас нарушение сна от приступа хрипящего или свистящего дыхания, 1 или более ночей в неделю за последние 12 месяцев?	0,4% (24/5435)	1,2% (51/4378)	1,4% (41/6282)	0,2% (11/6146)	1,0% (71/6968)
5. Был ли у Вас настолько тяжелый приступ свистящего или хрипящего дыхания в течение 12 месяцев, что он изменял речь до произношения только 1-2 слов между вдохами?	0,5% (29/5435)	2,0% (89/4378)	1,5% (44/6282)	0,3% (18/6146)	1,1% (119/6968)
6. Была ли у Вас когда-либо астма?	1,6% (85/5435)	6,2% (266/4378)	5,5% (163/6282)	0,5% (30/6146)	3,5% (245/6968)
7. Наблюдался ли у Вас свист или хрип в груди во время или после физической нагрузки в течение последних 12 месяцев?	2,4% (127/5435)	15,5% (702/4378)	4,6% (136/6282)	2,0% (124/6146)	11,5% (981/6968)
8. Был ли у Вас за последние 12 месяцев сухой кашель ночью (не связанный с простудой или воспалительными заболеваниями)?	5,8% (327/5435)	16,5% (735/4378)	11,9% (353/6282)	5,2% (320/6146)	17,5% (981/6968)

местности остается низким уровень диагностики астмы – 0,5-1,6%.

Продолжение исследования ISAAC по стандартизированной методике с 1998 года позволило выявить современные особенности и тенденции данной хронической патологии в регионе. Так, согласно мнению экспертов [9], актуальная распространенность БА более всего коррелирует с положительными ответами на вопросы №2 и №3 (наличие приступов затрудненного дыхания в течение последнего года). Вопросы №7 и №8 позволяют дополнительно выявить тех пациентов, у которых отсутствует классическое свистящее дыхание, но есть гиперреактивность бронхов. Все эти показатели, характеризующие распространенность, за последние 20 лет в Харьковском регионе, существенно снизились более чем в 2 раза. Тяжесть течения БА, о которой мы судим по ответам на вопросы №3, №4 и №5 (наличие более 4 приступов обструкции в год, нарушение сна более чем 1 раз в неделю и наличие тяжелого приступа, вызывающего нарушение речи), также снизилась – более чем в 3 раза.

Подобная позитивная тенденция, без сомнения, связана с широким внедрением в практику стандартов базисной терапии и других положений GINA.

Представляет интерес сравнение полученных результатов по Украине с Международными данными. На сегодня по программе ISAAC анкетировано около 2 млн. детей в 306 центрах 105 стран мира. Весь мир разделен на 9 регионов – Африка, Африка франко-говорящая, Азиатско-Тихоокеанский регион, Восточное Средиземноморье, Латинская Америка, Северная Америка, Северная и Восточная Европа, Океания, Южная Азия и Западная Европа. Отмечены значительные колебания по распространенности свистящего дыхания в течение последних 12 мес.: от 0,8% в Китае, 2,4% в Индии до 32,6% в Новой Зеландии и 37,6% – в Коста Рике [9]. Значительные различия отмечены даже в пределах одного региона. Так, в Северной и Восточной Европе, куда относится Украина, актуальная распространенность свистящего дыхания колеблется от 3,5% в Узбекистане до 10,1% – в Швеции, 10,9% – в Польше и 12,8% – в Финляндии. Распространенность свистящего дыхания в Украине сравнима с показателями Латвии (4,8%), Грузии (4,8%) и Эстонии (5,3%). Сравнивая распространенность симптоматических проявлений БА в Харьковском регионе и различных регионах мира, следует отметить,

что наши данные превышают показатели Африки и Индийского региона, ниже, чем в Северной и Латинской Америке, Океании, сравнимы с распространенностью в Азиатско-Тихоокеанском регионе и Западной Европе.

Сравнивая динамику распространенности респираторных симптомов в Харьковском регионе за последние 20 лет с международными данными об эпидемиологии астмы в мире, отмечены сходные тенденции в снижении данных показателей в странах англоязычных и Индии. Но во многих других регионах отмечено значительное (Латинская Америка) и умеренное (Китай, Индонезия, Тайвань, Южная Корея, Марокко, Алжир, Тунис) увеличение распространенности респираторных симптомов [10].

Выявленные результаты – не только эпидемиологические данные, необходимые для планирования экономики здравоохранения, но и базис для выявления патогенетических факторов, влияющих на формирование хронических бронхолегочных заболеваний.

Дополнительно были изучены клиничко-пациентские параметры у 70 детей в возрасте 6-17 лет (средний возраст – 11,0 лет), среди которых по 20 пациентов – с интермиттирующим, легким персистирующим и среднетяжелым персистирующим течением БА и 10 больных – с тяжелой персистирующей формой БА. Выявлена отягощенная наследственность по аллергии – у 54% детей; по бронхиальной астме – у 37%. При оценке физического развития выявлены отклонения только у 1 пациента – ожирение II степени (индекс массы тела – 25). Первые проявления свистящего дыхания зарегистрированы в возрасте до 3 лет – у 53% детей с БА. У 9% детей в анамнезе отмечался атопический дерматит и у 14% пациентов дерматит сохранялся на момент взятия под наблюдение. У 56% больных имел место аллергический ринит (18% – интермиттирующая и 82% – персистирующая формы).

Клинический анализ мокроты удалось собрать у 64% детей – выявлено преобладание нейтрофильного типа воспаления (68%). По данным спирографического исследования в периоде ремиссии обструктивные изменения легкой степени сохранялись у 3 пациентов с тяжелым персистирующим течением БА. У 84% выявлен повышенный уровень IgE сыворотки крови: медиана значений составила 238,3 [103,54–692,4] МЕ/мл при интермиттирующей форме, 348,56 [137,4–878,7] МЕ/мл; МЕ 414,87 [278,47–626,65] МЕ/

мл и 602,7 [483,2–698,05] МЕ/мл при легкой, средней и тяжелой персистирующих формах соответственно без достоверной разницы между группами. Аллергологическое тестирование, проведенное методом кожных прик-тестов, выявило наличие полисенситизации у большинства (86%) детей. Ведущими аллергенами для Харьковского региона являлись клещи домашней пыли, пыльца амброзии, райграсса, ольхи, дуба. Базисную терапию ингаляционными стероидами получали 54%, антилейкотриеновыми препаратами – 68%; аллерген-специфическую иммунотерапию – 14% пациентов; ни один больной не получал системные стероиды как базисную терапию. Среди обострений БА у детей, находящихся под наблюдением, преобладали кашлевые формы; классические приступы удушья зафиксированы только у 15% больных.

Основным видом терапии обострений у всех пациентов являлась небулайзерная терапия с применением бронхолитиков и противовоспалительных препаратов. За год наблюдения частота применения системных стероидов короткими курсами снизилась в 8 раз, потребность в госпитализации по поводу обострений уменьшилась в 11 раз. У всех детей удалось добиться стойкой ремиссии заболевания и перевести БА в контролируемое течение. Таким образом, изучение клинко-параклинических характеристик у наблюдаемых пациентов позволило установить некоторые особенности течения БА на современном этапе.

Заключение

1. Актуальная распространенность свистящего дыхания среди детей 6-14 лет в Харьковском регионе составляет 4,5% без достоверной разницы между жителями города и сельской местности. Тяжелые формы БА на современном этапе встречаются редко (до 0,7%).

2. Показатели распространенности и тяжести бронхиальной астмы в Украине являются средними для региона Северной и Восточной Европы.

3. За последние 20 лет отмечены тенденции к уменьшению как распространенности (в 2 раза), так и тяжести (в 3 раза) свистящего дыхания.

4. Охарактеризованы основные клинические особенности бронхиальной астмы у детей, получающих обследование и лечение по современным международным стандартам.

Литература

1. Global Strategy for Asthma Management and Prevention (2015 update) [Electronic resource] / Global Initiative for Asthma. – 2018. – Mode of access: <https://ginasthma.org/archived-reports/>.
2. Asthma incidence among children and adults: findings from the behavioral risk factor surveillance system asthma call-back survey – United States, 2006–2008 / R. A. Winer [et al.] // J. Asthma. – 2012 Jan. – Vol. 49, N 1. – P. 16–22.
3. Global Strategy for Asthma Management and Prevention (2018 update) [Electronic resource] / Global Initiative for Asthma. – 2018. – Mode of access: <https://ginasthma.org/2018-gina-report-global-strategy-for-asthma-management-and-prevention/>.
4. Астма [Электронный ресурс] / Всемирная организация здравоохранения. – 2018. – Режим доступа: <http://www.who.int/ru/news-room/fact-sheets/detail/asthma/>.
5. Nalina, N. Assessment of quality of life in bronchial asthma patients/ N. Nalina, M. R. Sathish Chandra, Umashankar // Int. J. Med. Public Health. – 2015 Jan-Mar. – Vol. 5, N 1. – P. 93–97.
6. Severe asthma and quality of life / E. Hossny [et al.] // World Allergy Organ. J. – 2017. – Vol. 10. – P. 28.
7. ISAAC. The International Study of Asthma and Allergies in Childhood [Electronic resource] / The University of Auckland. – New Zealand, 2012. – Mode of access: <http://isaac.auckland.ac.nz/>.
8. Огнев, В. А. Эпидемиология астмы и аллергии у детей : по материалам междунар. программы по изучению астмы и аллергии у детей (International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC) / В. А. Огнев. – Харків, 2015. – 335 с.
9. Global variation in the prevalence and severity of asthma symptoms: phase three of the International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC) / C. K. Lai [et al.] // Thorax. – 2009 Jun. – Vol. 64, N 6. – P. 476–483.
10. Worldwide trends in the prevalence of asthma symptoms: phase III of the International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC) / N. Pearce [et al.] // Thorax. – 2007. – Vol. 62, N 9. – P. 758–766.

Поступила 12.09.2018 г.

Принята в печать 29.11.2018 г.

References

1. Global Strategy for Asthma Management and Prevention (2015 update) [Internet]. Global Initiative for Asthma. 2018. Available from: <https://ginasthma.org/archived-reports/>.
2. Winer RA, Qin X, Harrington T, Moorman J, Zahran H.

Asthma incidence among children and adults: findings from the behavioral risk factor surveillance system asthma call-back survey – United States, 2006–2008. J Asthma. 2012 Feb;49(1):16–22. doi: 10.3109/02770903.2011.637594

3. Global Strategy for Asthma Management and Prevention (2018 update) [Internet]. Global Initiative for Asthma. 2018.

- Available from: <https://ginasthma.org/2018-gina-report-global-strategy-for-asthma-management-and-prevention/>.
4. Vsemirnaia organizatsiia zdavookhraneniia. Asthma [Elektronnyi resurs]. 2018. Rezhim dostupa: <http://www.who.int/ru/news-room/fact-sheets/detail/asthma/>. (In Russ.)
 5. Nalina N, Sathish Chandra MR, Umashankar. Assessment of quality of life in bronchial asthma patient. *Int J Med Public Health*. 2015 Jan-Mar;5(1):93-7. doi: 10.4103/2230-8598.151270
 6. Hossny E, Caraballo L, Casale T, El-Gamal Y, Rosenwasser L. Severe asthma and quality of life. *World Allergy Organ J*. 2017;10:28. doi: 10.1186/s40413-017-0159-y
 7. ISAAC. The International Study of Asthma and Allergies in Childhood [Internet]. The University of Auckland. New Zealand; 2012. Available from: <http://isaac.auckland.ac.nz/>.
 8. Ognev VA. Epidemiology of asthma and allergies in children: po materialam mezhdunar programmy po izucheniiu astmy i allergii u detei (International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC). Kharkiv, Ukraine; 2015. 335 p. (In Russ.)
 9. Lai CK, Beasley R, Crane J, Foliaki S, Shah J, Weiland S. Global variation in the prevalence and severity of asthma symptoms: phase three of the International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC). *Thorax*. 2009 Jun;64(6):476-83. doi: 10.1136/thx.2008.106609
 10. Pearce N, Ait-Khaled N, Beasley R, Mallol J, Keil U, Mitchell E, et al. Worldwide trends in the prevalence of asthma symptoms: phase III of the International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC). *Thorax*. 2007;62(9):758-66. doi: 10.1136/thx.2006.070169

Submitted 12.09.2018

Accepted 29.11.2018

Сведения об авторах:

Клименко В.А. – д.м.н., профессор, заведующая кафедрой пропедевтики педиатрии №2, Харьковский национальный медицинский университет,

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6762-9650>;

Карпушенко Ю.В. – к.м.н., доцент кафедры пропедевтики педиатрии №2, Харьковский национальный медицинский университет;

Кожина О.С. – аспирант кафедры пропедевтики педиатрии №2, Харьковский национальный медицинский университет.

Information about authors:

Klymenko V.A. – Doctor of Medical Sciences, professor, head of the Chair of Pediatrics Propedeutics No. 2, Kharkov National Medical University,

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6762-9650>;

Karpushenko J.V. – Candidate of Medical Sciences, associate professor of the Chair of Pediatrics Propedeutics No. 2, Kharkov National Medical University;

Kozhyna O.S. – postgraduate of the Chair of Pediatrics Propedeutics No. 2, Kharkov National Medical University.

Адрес для корреспонденции: Украина, 61022, г. Харьков, пр. Науки, 4, Харьковский национальный медицинский университет, кафедра пропедевтики педиатрии №2. E-mail: olga_k_med@ukr.net – Кожина Ольга Сергеевна.

Correspondence address: *Ukraine, 61022, Kharkov, 4 Nauky ave., Kharkov National Medical University, Chair of Pediatrics Propedeutics No. 2. E-mail: olga_k_med@ukr.net – Olga S. Kozhyna.*

ПОЛУЧЕНИЕ ТОКСИЧЕСКОЙ ХРОНИЧЕСКОЙ МОДЕЛИ СИНДРОМА ПАРКИНСОНИЗМА У КРЫС

АЛЕЙНИКОВА Н.Е.¹, БОЙКО А.В.¹, НИЖЕГОРОВА Д.Б.¹, ПОНОМАРЕВ В.В.¹,
ВАНСЛАВ М.И.¹, УСТЕМЧУК А.М.¹, ИГНАТОВИЧ Т.В.¹, КУЗНЕЦОВА Т.Е.²,
ГЛАДКОВА Ж.А.², ЗАФРАНСКАЯ М.М.¹

¹Белорусская медицинская академия последипломного образования, г. Минск, Республика Беларусь

²Институт физиологии Национальной академии наук Беларуси, г. Минск, Республика Беларусь

Вестник ВГМУ. – 2018. – Том 17, №6. – С. 92-99.

THE OBTAINING OF TOXIC CHRONIC MODEL OF PARKINSONISM SYNDROME IN RATS

ALEINIKAVA N.Y.¹, BOIKA A.V.¹, NIZHENARODAVA D.B.¹, PONOMAREV V.V.¹, VANS LAU M.I.¹,
USTSIAMCHUK A.M.¹, IHNATOVICH T.V.¹, KUZNETSOVA T.Y.², HLADKOVA Z.A.², ZAFRANSKAYA M.M.¹

¹Belarusian Medical Academy of Post-Graduate Education, Minsk, Republic of Belarus

²Institute of Physiology of the Belarusian National Academy of Sciences, Minsk, Republic of Belarus

Vestnik VGMU. 2018;17(6):92-99.

Резюме.

Исследование моделей паркинсонического синдрома (ПС) *in vivo* и *in vitro* позволяет косвенно судить о процессах, протекающих в дофаминпродуцирующих нейронах головного мозга человека. Нейротоксины используются для избирательной гибели нейронов черной субстанции (ЧС) при моделировании ПС.

Цель – разработка хронической токсической экспериментальной морфологически подтвержденной модели ПС у крыс при системном введении ротенона.

Материал и методы. Белые беспородные самки массой тела 250-350 г (n=80). Для растворения ротенона использовали растворитель (99% диметилсульфоксид (ДМСО):20% Lipovenos, 1:1). Ротенон вводили подкожно в роstralные участки межлопаточной области в дозах 1,75 мг/кг и 2,0 мг/кг (основная группа, n=60). Контрольную группу составили животные, которым при всех тех же условиях вводили только растворитель в эквивалентном объеме (n=20). Использовали индивидуальную идентификацию крыс. Рандомизацию по группам осуществляли случайным путем. Фронтальные срезы головного мозга толщиной 7 мкм готовили на микротоме-криостате НМ 525. Для светооптического исследования срезы окрашивали тионином, метиленовым синим по Нисслию и гематоксилин-эозином. Использовали микроскоп Altamі LUM-1 с цифровой камерой и программным обеспечением при увеличении объектива 40х.

Результаты. В основной группе животных клинические симптомы, характерные для экспериментального ПС, развивались спустя 3-е суток после введения ротенона. В контрольной группе клинические признаки ПС отсутствовали и морфологические изменения нейронов ЧС не выявлены. В основной группе в ЧС после первоначального ежедневного введения ротенона в дозе 1,75 и 2 мг/кг наблюдали выраженные морфологические деструктивные изменения. При микроскопии в ЧС было значительное число клеток с деструктивными и дистрофическими изменениями, также в ряде нейронов ЧС обнаружены тельца Леви.

Заключение. Получение хронической нейротоксической модели ПС, отражающей классическую симптоматику болезни Паркинсона, требует соблюдения всех требований к качеству проводимого эксперимента.

Ключевые слова: болезнь Паркинсона, моделирование на крысах, ротенон, морфология, тельца Леви.

Abstract.

Introduction. The investigation of parkinsonian syndrome (PS) models *in vivo* and *in vitro* allows to indirectly judge about the processes taking place in the living human cells. Neurotoxins are used for obtaining selective death of black substance (BS) neurons in PS modelling.

Objectives. To create chronic toxic experimental morphologically confirmed model of PS in rats on systemic administration

of rotenone.

Material and methods. White mongrel female rats weighing 250-350 g (n=80) were used. The following solvent was made use of to dissolve rotenone – 99% dimethylsulfoxide (DMSO):20% Lipovenos, 1: 1. Rotenone was administered subcutaneously in the rostral parts of the interscapular area at the doses of 1,75 mg / kg and 2,0 mg / kg (main group, n=60). The control group (n=20) consisted of animals, which under the same conditions were injected with the solvent in an equivalent volume. The individual identification of rats was used. Frontal sections of the brain with a thickness of 7µm were prepared on the microtome-cryostat HM 525. For the light-optical examination, the sections were stained with thionine and methylene blue according to Nissl and hematoxylin-eosin. Altami LUM-1 microscope with a digital camera and software with an 40x lens increase was used. **Results.** In the main group, the clinical symptoms characteristic of experimental PS developed in 3 days after the introduction of rotenone. In the control group, there were no clinical signs of PS. After the introduction of the solvent, no significant structural changes in the neurons of the rats' black substance were detected. In the main group in the black brain substance of rats, after the initial daily administration of rotenone at the dose of 1,75 and 2 mg / kg, pronounced destructive changes were observed. Microscopy revealed in the black substance a considerable number of cells with destructive and dystrophic changes, in some neurons of the black substance Lewy bodies were also found. **Conclusions.** It is necessary to satisfy all the requirements on the quality of the experiment being conducted to obtain chronic neurotoxic model of PS, reflecting the classical symptomatology of PD.

Key words: Parkinson's disease, modelling on rats, rotenone, morphology, Lewy bodies.

Болезнь Паркинсона (БП) является одним из наиболее распространенных дегенеративных заболеваний нервной системы. Во всем мире частота БП неуклонно нарастает, что связано с увеличением числа лиц пожилого и старческого возраста. Основная проблема изучения этиологии и патогенеза БП связана с отсутствием возможности у исследователей фиксировать процессы, протекающие в живых клетках человека. Во всем мире эта проблема решена путем создания моделей паркинсонического синдрома (ПС) *in vivo* (на лабораторных животных) или *in vitro*. ПС – это близкий по проявлениям к БП симптомокомплекс, который объединяет экстрапирамидные симптомы различной этиологии. Несмотря на различие причин, важно, что патоморфологическая основа всех проявлений ПС одинакова – это нейродегенеративный процесс преимущественно в нейронах чёрной субстанции (ЧС) головного мозга [1].

Несмотря на несомненный прогресс в изучении БП за последние 30 лет, до сих пор мы недостаточно знаем о молекулярной и клеточной биологии этого заболевания. Малоизвестно, почему и каким путем дегенеративный процесс при БП инициализируется и развивается в ЧС. Среди различных известных моделей ПС нейротоксины остаются наиболее популярным средством для получения избирательной гибели нейронов ЧС в моделях *in vivo* и *in vitro*. Для создания нейротоксических моделей на лабораторных животных используют химические вещества, селективно нарушающие функцию катехоламинергических систем головного мозга [2].

In vitro главным образом используются модели с применением экзогенных (ротенон, паракват и метил-4-фенил-1,2,3,6-тетрагидропиридин (МФТП) и эндогенных (6-гидроксидофамин, 1-метил-4-фенилпиридиния+ (МФП+), L-ДОПА) нейротоксинов [3]. Разные химические вещества воспроизводят различные морфологические, биохимические и клинические признаки ПС, поэтому каждая модель имеет свои преимущества и недостатки, а их выбор зависит от конкретных задач исследования. Так, в резерпиновой и метамфетаминовой моделях введение нейротоксинов вызывает истощение катехоламинов в нейронах центральной нервной системы (ЦНС), однако не вызывает свойственных для БП морфологических дегенеративных изменений в нейронах ЧС, воспроизводимые признаки характеризуются кратковременностью и обратимостью. Модель с применением 6-гидроксидофамина (6-OHDA) характеризуется избирательностью накопления нейротоксина в катехоламинергических нейронах, вызывая их дегенерацию и развитие типичных двигательных нарушений. Однако эта модель не воспроизводит все клинические и патологические признаки ПС, т.к. токсин не действует на другие структуры мозга, вовлекаемые в патологический процесс, и не приводит к формированию α-синуклеиновых включений [4]. Несмотря на это, данная модель является одной из наиболее удачных и широко применяется исследователями в оценке эффектов противопаркинсонических препаратов и нейротрансплантации [5]. Разработаны модели с использованием гербицидов, таких как паракват и манеб, которые вызы-

вают дозозависимое уменьшение числа нейронов ЧС головного мозга; модель с 3-нитротирозином, которые используют преимущественно для оценки окислительного стресса в патогенезе нейродегенеративного процесса. Однако эти модели не соответствуют характеру течения БП у человека и могут быть использованы только для решения специфических задач.

Среди всех известных экспериментальных моделей ПС особое внимание заслуживает модель с хроническим системным введением ротенона – пестицида и мощного ингибитора митохондриального комплекса [4]. Ротенон обладает высокой липофильностью и, таким образом, легко проникает во все органы, включая головной мозг. После однократной внутривенной инъекции ротенон достигает максимальной концентрации в ЦНС в течение 15 мин и снижается примерно до половины этого уровня менее чем за 2 часа. Распределение его в головном мозге гетерогенно, и определяется региональными различиями в окислительном метаболизме. Ротенон свободно проникает через все клеточные мембраны и может накапливаться в субклеточных органеллах, таких как митохондрии. С другой стороны, системное введение часто вызывает токсические эффекты и высокую летальность у экспериментальных животных, степень которой связана с используемой дозой и качеством выполняемых процедур. К настоящему времени наиболее часто применение ротенона проводится по одной из разработанных схем системного введения нейротоксических препаратов – острая, подострая и хроническая. Острая схема предполагает одно или несколько введений токсина в течение одного-двух дней. Однократное введение большой дозы вызывает большую смертность животных, что существенно снижает ценность модели. Высокой летальности можно избежать при использовании многократного введения препарата в меньшей разовой дозе, поэтому в эксперименте чаще используют подострые схемы введения в течение 5-10 дней или хронические – 3-4-5 недель. При этом происходит значительное снижение содержания дофамина при менее выраженной гибели нейронов ЧС по сравнению с контролем [6]. Предполагается, что при остром введении токсина гибель нейронов ЧС происходит путем некроза, в то время как при подострой схеме введения нейротоксина – путем апоптоза [7]. Длительное системное введение нейротоксинов позволяет приблизить модель к формированию хронического нейродегенера-

тивного процесса, что наиболее соответствует течению классической БП. Весьма ценным при изучении БП является морфологическая оценка биообразцов на разных сроках постановки эксперимента.

Создание адекватной экспериментальной модели ПС является важным этапом разработки новых методов терапии неврологических заболеваний, включая использование клеточных технологий. Публикации, посвященные данной теме [9], детально не описывают постановку экспериментов, позволяющих получить морфологически подтвержденную нейродегенерацию, что ведет к затруднениям получения модели ПС у исследователей, не обладающих большим опытом.

Цель исследования – разработка хронической токсической экспериментальной модели ПС у крыс, подтвержденной морфологически, при системном введении ротенона.

Материал и методы

Экспериментальные данные получены в опытах на белых крысах массой тела 250-350 г ($n=80$). Животных содержали в стандартных условиях вивария ГУО «Белорусская медицинская академия последипломного образования» (температура воздуха $23\pm 1^\circ\text{C}$, вентиляционный режим 30 мин/ч) при свободном доступе к воде и пище, на одинаковом рационе в соответствии с нормами содержания лабораторных животных, с соблюдением светового и шумового режимов. Все эксперименты выполнены с учетом рекомендаций Европейской конвенции о гуманном обращении с лабораторными животными. Проведение исследования было одобрено этическим комитетом ГУО БелМАПО (протокол №3 от 02.10.2017г.).

Эксперимент начинали в одно и то же время суток – утром, учитывая хронобиологическую зависимость большинства физиологических и биохимических процессов в организме крысы. Индивидуальная идентификация – окраска различных участков шерстного покрова спиртовым раствором пикриновой кислоты. С целью выявления признаков паркинсонизма и оценки тяжести ПС у крыс проводили общий осмотр.

Для растворения ротенона использовался растворитель 99% диметилсульфоксид (ДМСО):20% Lipovenos, 1:1. В начале эксперимента при подкожном пути введения ротенона в ростральные участки межлопаточной области в дозах 1,75 мг/кг и 2,0 мг/кг ежедневно, кроме

субботы и воскресенья, мы наблюдали высокую смертность лабораторных животных (более 70%) начиная с первых суток введения препарата. В клинической картине у них выявили выраженную олиго-, брадикинезию. При этом морфологические признаки, характерные для ПС у этих крыс, не успевали сформироваться (смотри результаты гистологических исследований, представленные ниже).

После обсуждения первоначальных неудовлетворительных результатов было решено изменить методические особенности работы с экспериментальными животными следующим образом:

- для уменьшения болевых реакций у крыс использовали только инсулиновые шприцы (один шприц – одна инъекция – одно лабораторное животное);

- предварительно, в течение одной-двух недель до начала эксперимента, животных приручали к рукам (хендлинг);

- для снижения частоты формирования внутримышечных и подкожных инфильтратов инфузии выполнялись только после предварительного пальпаторного обследования роstralной области с обнаружением мест, подходящих для инъекций (без инфильтратов);

- в экспериментах с хроническим введением ротенона использовали методику подкожных инъекций: инсулиновый шприц брали в руку таким образом, чтобы мизинец придерживал канюлю иглы под углом 30-45 градусов, затем свободной рукой делали небольшую складку кожи и осуществляли введение препарата. Предварительно место инъекции обрабатывали спиртовым раствором. Если спустя некоторое время на месте введения образовалось уплотнение, ротенон в эту область больше не вводили;

- для уменьшения токсического эффекта ротенона частота его введения была снижена до 4-х в неделю (понедельник-вторник, четверг-пятница). Ротенон вводили в течение 3-х недель.

- дозирование ротенона лабораторным животным осуществлялось под строгим контролем минимальной рекомендуемой вводимой дозы (2.0 мг\кг массы тела животного), учитывая значительное снижение массы тела животных в ходе эксперимента.

Развитие нейродегенеративных изменений в головном мозге крысы при моделировании ПС после введении ротенона подтверждали морфологически. Для этого животных декапитировали,

извлекали головной мозг, после чего его замораживали (для исключения артефактов). Далее нефиксированный мозг помещали на криостатный блок. Фронтальные срезы мозга толщиной 7 мкм готовили на микротоме-криостате НМ 525 (производитель «Mісrom», Германия). Уровень срезов определяли по стереотаксическому атласу мозга крысы. Для светооптического исследования срезы окрашивали тионином и метиленовым синим по Нисслю и гематоксилин-эозином. Изучение микропрепаратов и изготовление микрофотографий проводили с помощью микроскопа Altamі LUM-1 с цифровой камерой и программным обеспечением при увеличении объектива 40х.

Контрольную группу составили животные, которым при всех тех же условиях вводили растворитель (ДМСО: 20% Lipovenos, 1:1) в эквивалентном объеме (n=20). Рандомизацию по группам осуществляли случайным образом.

Результаты и обсуждение

При создании моделей хронического нейродегенеративного процесса исследователям необходимо учитывать тот факт, что проявления ПС носят волнообразный характер. Так, в моделях с хроническим системным введением ротенона обычно наблюдается два пика максимальной выраженности суммарных признаков паркинсонизма, как правило, на 3-4-е и 28-е сутки с момента первой инъекции нейротоксина (определяется используемой дозой). Первый пик можно объяснить возможным развитием острого обратимого повреждения среднего мозга, второй пик – необратимым повреждением дофаминергических нейронов ЧС [2]. Эти данные должны быть определяющими для решения вопроса о сроках забора материала от животных и начале основного эксперимента по оценке качества той или иной терапии (необходимость получения модели токсического паркинсонизма или моделирование классической БП).

Иначе обстоит дело в моделях с развитием острого ПС. Согласно данным ряда авторов, пик развития характерных клинических симптомов приходится на 2-е сутки после введения нейротоксина, а затем наблюдается постепенное снижение признаков паркинсонизма вплоть до их полного исчезновения безо всякого терапевтического воздействия, например (моделировании ПС путем однократного введения большой дозы ротенона) [10]. Это говорит о неспецифичности

и обратимости повреждения среднего мозга, а также о быстром включении компенсаторных механизмов, направленных на поддержание гомеостаза целостного организма.

Осмотр животных в первоначальном и модифицированном экспериментах выявил быстрое развитие клинических симптомов, характерных для экспериментального ПС с 3-4-х суток от первой инъекции: олигокинезия, птоз верхнего века и сгорбленная поза животного, затем наблюдалось постепенное уменьшение симптоматики с повторным нарастанием их выраженности к 28-м суткам. Отмечено уменьшение степени выраженности изменений после выходных дней, что мы связываем со снижением токсического действия ротенона. Гибель экспериментальных животных в модифицированном эксперименте составила 16,7% (4 крысы из 24), что было даже ниже международных данных. Полученные данные дополнительно указывают на фазовость процесса формирования хронической модели ПС, включающей в себя эффекты от прямого обратимого токсического действия ротенона на организм животных и формирующихся нейродегенеративных

изменений. В группе контроля данные признаки отсутствовали.

В тесте «Открытое поле» у экспериментальных животных по сравнению с группой контроля начиная с 3-х суток введения ротенона выявлено значительное снижение горизонтальной и вертикальной двигательной активности.

После введения растворителя в ЧС головного мозга крысы не выявлено существенных структурных изменений нейронов (рис. 1А). Преобладали нормохромные клетки симметричной формы с равномерно распределенной тигроидной субстанцией. Их ядра имели округлую форму, с крупными ядрышками, располагавшимися обычно в центре ядра. В незначительном количестве обнаруживались гиперхромные и гипохромные нейроны. В отдельных полях зрения встречались нейроны с частичным тигролизом.

Морфология крыс первоначального эксперимента: в ЧС крысы после первоначального ежедневного введения ротенона в дозе 1,75 и 2 мг/кг наблюдали выраженные деструктивные изменения (рис. 1Б). Практически все нейроны имели те или иные признаки патологических из-

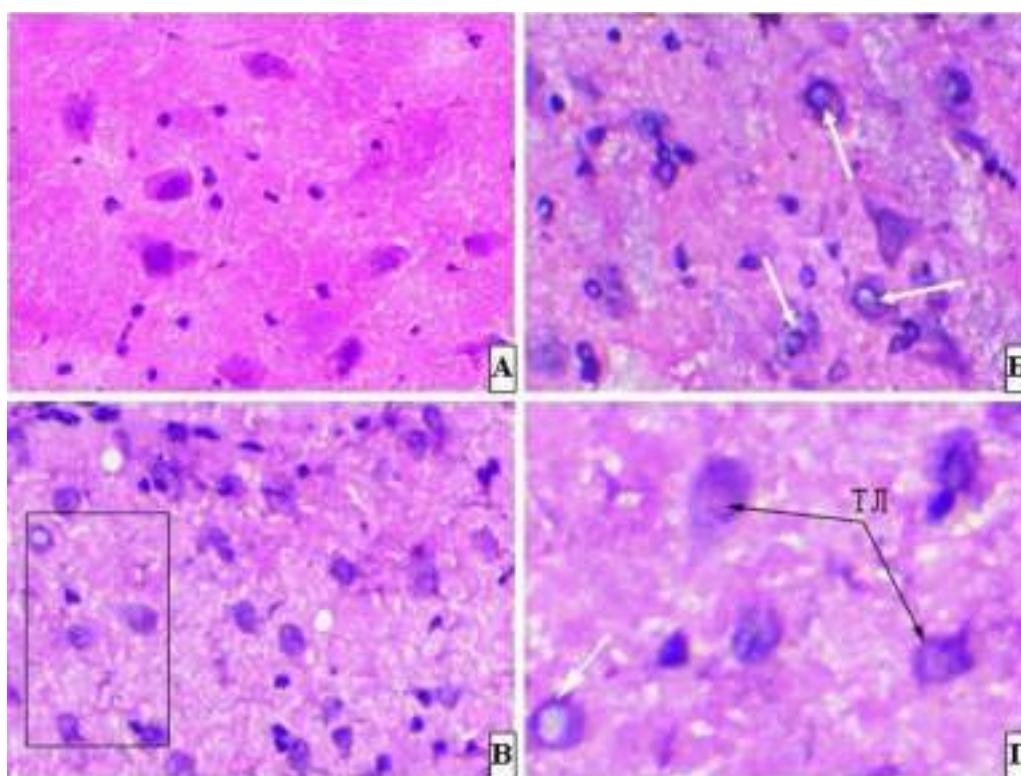


Рисунок 1 – Микрофото фронтальных срезов черной субстанции мозга крысы после введения растворителя (А), ежедневного введения ротенона в дозе 2мг/кг (Б), после уменьшения частоты введения ротенона в дозе 2 мг/кг (В). Г – фрагмент рисунка В. ТЛ – тельца Леви, белые стрелки – вакуоли. Окраска: гематоксилин-эозином. Увеличение: х 400.

менений. Выявлялись как гиперхромные сморщенные нейроны, так и клетки с тигролизом. Отмечалось появление клеток-«теней», в которых слабо контурировались клеточная и ядерная мембраны. В ряде нервных клеток обнаруживалась вакуолизация цитоплазмы и ядер. Аналогичные изменения выявлялись и в стриатуме.

Морфология крыс исправленного эксперимента (рис. 1В): в компактной части ЧС наряду с немногочисленными неизменными нормохромными нейронами наблюдали значительное число клеток с деструктивными и дистрофическими изменениями. Большинство нейронов были гиперхромны, в них не просматривались ядра и ядрышки. В некоторых нейронах обнаруживали полный и частичный тигролиз, характеризующийся распадом или растворением тигроидной субстанции. Наблюдалась вакуолизация нервных клеток. В ряде нейронов обнаружены тельца Леви (рис. 1Г) – морфологические маркеры БП. В области базальных ядер также выявлялось значительное количество патологически измененных нейронов, сморщенных или с тигролизом. Также обнаруживались единичные тельца Леви. Таким образом, мы доказали, что подкожное введение крысам Ротенона в дозе 2 мг/кг в течение 21 суток приводило к развитию деструктивных изменений в нигростриатной системе с образованием телец Леви, что соответствовало патоморфологической картине БП.

Полученные нами в ходе выполнения работы клинические и морфологические данные соответствуют результатам международных исследований [11, 12], что позволяет нам сделать вывод о положительном завершении промежуточных этапов исследования и валидности полученной модели.

Заключение

In vivo, на крысах, получение хронической нейротоксической модели ПС, отражающей классическую симптоматику БП, является сложной задачей, требующей строгого выполнения всех требований к качеству проводимого эксперимента. Соблюдение вышеизложенных методических особенностей при многократном введении довольно болезненного и токсического препарата позволяет свести к минимуму травмирование, стрессирование и гибель экспериментальных животных. При проведении исследований следует различать клинические/морфологические

данные, связанные с обратимым токсическим действием ротенона на экспериментальных животных, а также изменения, вызванные нейродегенеративным процессом. Морфологические данные, полученные при создании хронической модели ПС, основанной на парентеральном введении ротенона, можно использовать при оценке динамики нейродегенеративного процесса под влиянием новых экспериментальных терапевтических воздействий.

Работа осуществлена в рамках выполнения НИОК(Т)Р по заданию 19.17 «Разработать и внедрить метод терапии болезни Паркинсона с использованием клеточных технологий» подпрограммы «Трансплантация клеток, органов и тканей» ГНТП «Новые методы оказания медицинской помощи».

Литература

1. Методические рекомендации по доклиническому изучению лекарственных средств с противопаркинсонической активностью / Т. А. Воронина [и др.] // Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Ч. 1 / Н. Д. Бутянян [и др.]. – М.: Гриф и К, 2012. – Гл. 13. – С. 219–234.
2. Rotenone, deguelin, their metabolites, and the rat model of Parkinson's disease / P. Caboni [et al.] // Chem. Res. Toxicol. – 2004 Nov. – Vol. 17, N 11. – P. 1540–1548.
3. Модели болезни Паркинсона in vitro / Н. А. Малиновская [и др.] // Науч. аспект. – 2012. – Т. 2, № 4. – С. 193–201.
4. Betarbet, R. Animal models of Parkinson Disease / R. Betarbet, T. B. Sherer, J. T. Greenamyre // Bioessays. – 2002 Apr. – Vol. 24, N 4. – P. 308–318.
5. Иллариошкин, С. Н. Моделирование болезни Паркинсона с использованием индуцированных плюрипотентных стволовых клеток / С. Н. Иллариошкин, Л. Г. Хаспеков, И. А. Гривенников. – М.: РКИ Соверо пресс, 2016. – 183 с.
6. Fate of nigrostriatal neurons in young mature mice given 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine: a neurochemical and morphological reassessment / G. A. Ricaurte [et al.] // Brain Res. – 1986 Jun. – Vol. 376, N 1. – P. 117–124.
7. Time course and morphology of dopaminergic neuronal death caused by the neurotoxin 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine / V. Jackson-Lewis [et al.] // Neurodegeneration. – 1995 Sep. – Vol. 4, N 3. – P. 257–269.
8. Rotenone Model of Parkinson Disease. Multiple brain mitochondria dysfunctions after short term systemic rotenone intoxication / A. Panov [et al.] // J. Biol. Chem. – 2005 Dec. – Vol. 280, N 51. – P. 42026–42035.
9. Анисимов, С. В. Клеточная терапия болезни Паркинсона / С. В. Анисимов. – СПб.: Изд-во Н-Л, 2014. – 320 с.
10. Thiffault, C. Increased striatal dopamine turnover following acute administration of rotenone to mice / C. Thiffault, J. W. Langston, D. A. Di Monte // Brain Res. – 2000 Dec. – Vol.

- 885, N 5. – P. 283–288.
11. Chronic systemic pesticide exposure reproduces features of Parkinson's disease / R. Betarbet [et al.] // Nat. Neurosci. – 2000 Dec. – Vol. 3, N 12. – P. 1301–1306.
12. Subcutaneous rotenone exposure causes highly selective dopaminergic degeneration and alpha-synuclein aggregation / T. B. Sherer [et al.] // Exp. Neurol. – 2003 Jan. – Vol. 179, N 1. – P. 9–16.

*Поступила 26.09.2018 г.
Принята в печать 29.11.2018 г.*

References

1. Voronina EA, Val'dman LN, Nerobkova, Kapitsa IG. Guidelines for preclinical study of drugs with anti-Parkinsonian activity. V: Seredenin SB, Khaitov RM, Anokhina IP, Archakov AI, Ramnbykov VA, Gintsburg AL, i dr. Rukovodstvo po provedeniiu doklinicheskikh issledovaniy lekarstvennykh sredstv Ch 1. Moscow, RF: Grif i K; 2012. Gl 13. P. 219-34. (In Russ.)
2. Caboni P, Sherer TB, Zhang N, Taylor G, Na HM, Greenamyre JT, et al. Rotenone, deguelin, their metabolites, and the rat model of Parkinson's disease. Chem Res Toxicol. 2004 Nov;17(11):1540-8.
3. Malinovskaya NA, Morozova GA, Kuvacheva NV, Gasymlu ED. Models of Parkinson's disease in vitro. Nauch Aspekt. 2012;2(4):193-201. (In Russ.)
4. Betarbet R, Sherer TB, Greenamyre JT. Animal models of Parkinson Disease. Bioessays. 2002 Apr;24(4):308-18. doi: 10.1002/bies.10067
5. Illarionovskiy SN, Khaspekoy LG, Grivennikov IA. Simulation of Parkinson's disease using induced pluripotent stem cells. Moscow, RF: RKI Sovero press; 2016. 183 p. (In Russ.)
6. Ricaurte GA, Langston JW, Delaney LE, Irwin I, Peroutka SJ, Forno LS. Fate of nigrostriatal neurons in young mature mice given 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine: a neurochemical and morphological reassessment. Brain Res. 1986 Jun;376(1):117-24.
7. Jackson-Lewis V, Jakowec M, Burke RE, Przedborski S. Time course and morphology of dopaminergic neuronal death caused by the neurotoxin 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine. Neurodegeneration. 1995 Sep;4(3):257-69.
8. Panov A, Dikalov S, Shalbuyeva N, Taylor G, Sherer T, Greenamyre JT. Rotenone Model of Parkinson Disease. Multiple brain mitochondria dysfunctions after short term systemic rotenone intoxication. J Biol Chem. 2005 Dec;280(51):42026-35. doi: 10.1074/jbc.M508628200
9. Anisimov SV. Cell therapy for Parkinson's disease stem cells. Saint-Petersburg, RF: Izd-vo N-L; 2014. 320 p. (In Russ.)
10. Thiffault C, Langston JW, Di Monte DA. Increased striatal dopamine turnover following acute administration of rotenone to mice. Brain Res. 2000 Dec;885(5):283-8.
11. Betarbet R, Sherer TB, MacKenzie G, Garcia-Osuna M, Panov AV, Greenamyre JT. Chronic systemic pesticide exposure reproduces features of Parkinson's disease. Nat Neurosci. 2000 Dec;3(12):1301-6. doi: 10.1038/81834
12. Sherer TB, Kim JH, Betarbet R, Greenamyre JT. Subcutaneous rotenone exposure causes highly selective dopaminergic degeneration and alpha-synuclein aggregation. Exp Neurol. 2003 Jan;179(1):9-16.

*Submitted 26.09.2018
Accepted 29.11.2018*

Сведения об авторах:

Алейникова Н.Е. – аспирант кафедры неврологии и нейрохирургии, Белорусская медицинская академия последипломного образования;

Бойко А.В. – к.м.н., докторант кафедры неврологии и нейрохирургии, Белорусская медицинская академия последипломного образования;

Нижегородова Д.Б. – к.б.н., ведущий научный сотрудник отдела иммунологии и биомедицинских технологий научно-исследовательской лаборатории, Белорусская медицинская академия последипломного образования;

Пономарев В.В. – д.м.н., профессор, заведующий кафедрой неврологии и нейрохирургии, Белорусская медицинская академия последипломного образования;

Ванслав М.И. – младший научный сотрудник отдела иммунологии и биомедицинских технологий НИЛ, Белорусская медицинская академия последипломного образования;

Устемчук А.М. – младший научный сотрудник НИЛ, Белорусская медицинская академия последипломного образования;

Игнатович Т.В. – младший научный сотрудник отдела иммунологии и биомедицинских технологий НИЛ, Белорусская медицинская академия последипломного образования;

Кузнецова Т.Е. – к.б.н., старший научный сотрудник, Институт физиологии Национальной академии наук Беларуси;

Гладкова Ж.А. – научный сотрудник лаборатории нейрофизиологии, Институт физиологии Национальной академии наук Беларуси;

Зафранская М.М. – д.м.н., главный научный сотрудник отдела иммунологии и биомедицинских технологий НИЛ, Белорусская медицинская академия последипломного образования.

Information about authors:

Aleinikava N.Y. – postgraduate of the Chair of Neurology & Neurosurgery, Belarusian Medical Academy of Post-Graduate Education;

Boika A.V. – Candidate of Medical Sciences, doctoral candidate of the Chair of Neurology & Neurosurgery, Belarusian Medical Academy of Post-Graduate Education;

Nizheharodava D.B. – Candidate of Biological Sciences, leading research officer of the immunology and biomedical technologies department of the Scientific-Research Laboratory, Belarusian Medical Academy of Post-Graduate Education;

Ponomarev V.V. – Doctor of Medical Sciences, professor, head of the Chair of Neurology & Neurosurgery, Belarusian Medical Academy of Post-Graduate Education;

Vanslau M.I. – associate research officer of the immunology and biomedical technologies department of the Scientific-Research Laboratory, Belarusian Medical Academy of Post-Graduate Education;

Ustiamchuk A.M. – associate research officer of the immunology and biomedical technologies department of the Scientific-Research Laboratory, Belarusian Medical Academy of Post-Graduate Education;

Ihnatovich T.V. – associate research officer of the Scientific-Research Laboratory, Belarusian Medical Academy of Post-Graduate Education;

Kuznetsova T.Y. – Candidate of Biological Sciences, senior research officer of the Institute of Physiology, Belarusian National Academy of Sciences;

Hladkova Z.A. – research officer of the Neurophysiology Laboratory of the Institute of Physiology, Belarusian National Academy of Sciences;

Zafranskaya M.M. – Doctor of Medical Sciences, principal research officer of the immunology and biomedical technologies department of the Scientific-Research Laboratory, Belarusian Medical Academy of Post-Graduate Education.

Адрес для корреспонденции: Республика Беларусь, 220013, г. Минск, ул. П. Бровки, 3, корп. 3, Белорусская медицинская академия последипломного образования. E-mail: aboika@tut.by – Бойко Александр Васильевич.

Correspondence address: Republic of Belarus, 220013, Minsk, 3-3 P. Brovki str., Belarusian Medical Academy of Post-Graduate Education. E-mail: aboika@tut.by – Aliaksandr V. Boika.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ КРИТЕРИЯ НЕБЛАГОПРИЯТНОГО ТЕЧЕНИЯ ПОСЛЕОПЕРАЦИОННОГО ПЕРИОДА У ПАЦИЕНТОВ С ОРОФАРИНГЕАЛЬНЫМ УРОВНЕМ ОБСТРУКЦИИ

МАКАРИНА-КИБАК Л.Э.¹, ЕРЕМЕНКО Ю.Е.¹, КОРНЕЛЮК О.А.¹, МИРИЛЕНКО А.П.²

¹Республиканский научно-практический центр оториноларингологии, г. Минск, Республика Беларусь

²Белорусский государственный аграрный технический университет, г. Минск, Республика Беларусь

Вестник ВГМУ. – 2018. – Том 17, №6. – С. 100-105.

DETERMINING THE CRITERION OF THE UNFAVOURABLE COURSE OF THE POSTOPERATIVE PERIOD IN PATIENTS WITH OROPHARYNGEAL LEVEL OF OBSTRUCTION

MAKARYNA-KIBAK L.E.¹, YAROMENKA Y.E.¹, KARNALIUK V.A.¹, MIRYLENKA A.P.²

¹Republican Scientific and Practical Centre of Otorhinolaryngology, Minsk, Republic of Belarus

²Belarusian State Agrarian Technical University, Minsk, Republic of Belarus

Vestnik VGMU. 2018;17(6):100-105.

Резюме.

В результате выполненной работы разработан интегральный критерий течения послеоперационного периода, представляющий собой сумму негативных факторов: кровотечение, расхождение швов, избыточное рубцевание, боль по визуально-аналоговой шкале на 7-е сутки > 4 баллов, отек слизистой на 7-е сутки > 1 балла по 3-балльной визуально-аналоговой шкале. Сумма баллов по перечисленным факторам представляет собой интегральный критерий [S], характеризующий степень неблагоприятного течения послеоперационного периода. При значениях критерия $S > 2$ течение послеоперационного периода следует признавать неблагоприятным.

Наличие интегрального дихотомического критерия позволит разработать математическую модель прогнозирования течения послеоперационного периода.

Выделена группа с неблагоприятным течением послеоперационного периода, в которой вероятность осложнений значительно выше в сравнении с основной группой: расхождение швов в 6,5 раза (85% против 13%), кровотечение в 14 раз (69% против 5%), избыточное и грубое рубцевание в 31 раз (62% против 2%) ($p < 0,001$). Медиана длительности стационарного лечения в группе с неблагоприятным течением послеоперационного периода составила 12 койко-дней (интерквартильный диапазон 8-13) против 7,5 койко-дней в основной группе (интерквартильный диапазон 7-8). Длительность очищения мягкого неба и тонзиллярных ниш в группе с неблагоприятным течением 15 суток (интерквартильный диапазон 13-17) в сравнении с группой с благоприятным течением – 12 (интерквартильный диапазон 10-16) ($p < 0,001$).

Ключевые слова: синдром обструктивного апноэ во сне, послеоперационный период, интегральный критерий, неблагоприятный прогноз.

Abstract.

As a result of the study performed, an integral criterion of the postoperative period course has been developed, which is the sum of negative factors: bleeding, suture line disruption, excessive scarring, pain according to visual-analogue scale on the 7th day > 4 points, mucosal edema on the 7th day > 1 point according to 3-point visual-analogue scale. The sum of the points for these factors is an integral criterion [S], characterizing the degree of an unfavourable course of the postoperative period. When the values of this criterion equal $S > 2$, the course of the postoperative period should be considered as an unfavourable one. The presence of an integral dichotomous criterion will allow to develop a mathematical model for prognosticating the course of the postoperative period.

A group with the unfavourable course of the postoperative period has been identified in which the probability of the complications is significantly higher in comparison with the main group: suture line disruption – 6,5 times (85% vs. 13%),

bleeding –14 times (69% vs. 5%), excessive and coarse scarring –31 times (62% vs. 2%) ($p<0,001$). The duration median of an inpatient treatment in the group with the unfavourable course of the postoperative period made up 12 bed-days (interquartile range 8-13) vs. 7,5 bed-days in the main group (interquartile range 7-8). The duration of the soft palate and tonsillar niches cleansing in the group with the unfavourable course was 15 days (interquartile range 13-17) compared to the favourable course group where it was 12 days (interquartile range 10-16) ($p<0,001$).

Key words: obstructive sleep apnea syndrome, postoperative period, integral criterion, poor prognosis.

Орофарингеальный уровень обструкции встречается у большинства пациентов (до 94%) с жалобами на храп, одинаково часто как при синдроме апноэ во сне (СОАС) различной степени тяжести, так и при неосложненном храпе [1]. Одним из основных методов лечения является устранение обструкции хирургическим путем. Главным требованием к современным методам хирургического лечения является: отсутствие послеоперационных осложнений, выраженного болевого синдрома в послеоперационном периоде [2], уменьшение длительности стационарного лечения.

В послеоперационном периоде у пациентов с СОАС возникают осложнения: кровотечения, грубое рубцевание, выраженный болевой синдром. Кровотечение является одним из наиболее частых осложнений (9,1%), которое сопровождается значительной кровопотерей, требует выполнения неотложных мероприятий, увеличивает сроки пребывания пациентов в стационаре [3, 4]. Согласно литературным данным, неблагоприятное течение послеоперационного периода чаще встречается при тяжелой степени синдрома апноэ [5].

Течение послеоперационного периода у пациентов характеризуется значительным числом показателей, что затрудняет возможность объективной оценки и прогнозирования. Необходимо выделить наиболее важных показателей с разработкой на их основе полного и объективного интегрального критерия.

Цель – разработать критерий неблагоприятного течения послеоперационного периода после хирургического лечения у пациентов с орофарингеальным уровнем обструкции.

Материал и методы

Для выполнения исследования было отобрано 75 пациентов с орофарингеальным уровнем обструкции, которые проходили обследование и лечение в РНПЦ оториноларингологии в период с 2016 по 2018 год. Средний возраст пациентов составил $46,0 \pm 1,0$ лет ($M \pm m$), из них 16 женщин и 59 мужчин.

Степень тяжести СОАС установлена путем полисомнографического исследования с использованием оборудования «SomnoCheck2» с программным обеспечением «SomnoLab2» Weinmann (Швейцария). У 17 (22,7%) пациентов диагностирован неосложненный храп, у 18 (24%) пациентов – СОАС легкой степени, у 18 (24%) пациентов – средней степени, у 22 (29,3%) – тяжелой степени.

Орофарингеальный уровень обструкции установлен при выполнении эндоскопического исследования верхних дыхательных путей в медикаментозном сне. Всем пациентам выполнено хирургическое лечение, которое позволяет одновременно устранить назофарингеальную обструкцию в боковом и переднезаднем направлении за счет удаления небных миндалин и переконфигурации мягкого неба – боковая фарингопластика.

Пациенты в послеоперационном периоде получали стандартное лечение, с целью обезболивания применяли кеторолак 2,0 мл 2 раза в сутки внутримышечно.

В ходе исследования определяли следующие показатели: наличие послеоперационных осложнений, длительность приема обезболивающих средств стационарного лечения. Болевой синдром на 3, 5, 7, 10 и 14 сутки оценивали при помощи 10 балльной визуально-аналоговой шкалы (ВАШ) [6]. Фарингоскопию с оценкой перифокального отека и гиперемии слизистой оболочки мягкого неба, тонзиллярных ниш выполняли на 3, 5, 7, 10, 14 сутки после операции с помощью 3-балльной визуально-аналоговой шкалы [7], где 0 – симптом отсутствует, 1 – выражен незначительно, 2 – выражен умеренно, 3 – выражен максимально. Также при фарингоскопии фиксировали длительность полного очищения тонзиллярных ниш и мягкого неба от фибринозного налета (сутки).

Для оценки выраженности болевого синдрома в результате вычисления экспоненциальной регрессионной зависимости определена величина t , которая называется временем релаксации и является основной величиной, харак-

теризующей динамику возвращения системы к равновесию.

Все показатели, рассматриваемые в исследовании, не имели нормального распределения, поэтому сравнение групп проводилось по соответствующим непараметрическим критериям. Различия считались статистически значимыми при $p < 0,05$. Все значения p были двусторонними. Расчеты выполнены в пакете прикладных программ STATISTICA 10.0.

Результаты и обсуждение

У 12 пациентов (16%) в послеоперационном периоде наблюдали кровотечение. У 19 пациентов (25,3%) отмечали расхождение швов, грубое рубцевание мягкого неба и тонзиллярных ниш при фарингоскопии визуализировали через 3 месяца после операции у 9 пациентов, что составило 12%. У значительного числа пациентов наблюдались осложнения, среди них на первом месте – расхождение послеоперационных швов в орофарингеальной области.

В результате изучения длительности послеоперационного периода установлено, что существует группа пациентов с затяжным течением. При изучении длительности пребывания в стационаре установлено, что у 45 пациентов (60,8%) число дней лечения не превысило 8 (интерквартильный диапазон 7-9 дней), у 19 пациентов (25,6%) этот показатель находится в интервале от 10 до 16 дней. Интерквартильный диапазон длительности приема обезболивающих препаратов составил 3-4 суток, максимальные значения показателя не превысили 6 суток. По времени полного очищения от фибринозного налета тонзиллярных ниш и мягкого неба пациенты разделились на две приблизительно равные совокупности с периодом 9-12 суток и 13-17 суток.

Анализ болевого синдрома и дисфагии в послеоперационном периоде свидетельствует, что среди пациентов существует группа с большей выраженностью боли. Интенсивность болевого синдрома по ВАШ в послеоперационном периоде варьировала в большом диапазоне: на пятые сутки в интерквартильном диапазоне от 4 до 8 баллов, на седьмые сутки – от 0 до 8 баллов. Полное купирование болевого синдрома наступило в срок от 10 до 14 суток. Интенсивность болевого синдрома при глотании (дисфагии) на 3 сутки была одинакова для всех пациентов, на 7 сутки значительно различалась в диапазоне от 0

до 6 баллов по ВАШ ($p < 0,001$).

При выполнении фарингоскопии выявлено, что отечность слизистой оболочки глотки и мягкого неба у пациентов различна и составила: на 5 сутки в интерквартильном диапазоне от 2 до 1,25 баллов, на 7 сутки в интерквартильном диапазоне от 1,6 балла до 0,6 баллов. Гиперемия слизистой оболочки глотки и мягкого неба на 7 сутки составила от 1,5 балла до 0,7 баллов ($p < 0,001$).

Таким образом, в результате анализа длительности течения послеоперационного периода, болевого синдрома и фарингоскопической картины в послеоперационном периоде установлено, что совокупность обследованных пациентов включает группу с замедленным течением процессов заживления мягких тканей глотки.

Для выявления пациентов этой группы из совокупности послеоперационных показателей необходимо разработать единый объективный и однозначный критерий оценки. К исходным показателям, характеризующим течение послеоперационного периода, отнесли все изученные показатели.

Анализируя послеоперационные показатели, мы пришли к выводу, что они имеют различную значимость и информативность. Длительность стационарного лечения имеет значительную субъективную составляющую, поэтому включать этот показатель в формирование интегрального критерия послеоперационного течения нецелесообразно.

Все виды послеоперационных осложнений (кровотечение, избыточное рубцевание и несостоятельность швов) являются значимыми ввиду опасности для жизни, уменьшения функциональной эффективности выполненного лечения.

Длительность приема обезболивающих препаратов коррелирует с динамикой выраженности болевого синдрома и дисфагии в послеоперационном периоде, поэтому в состав интегрального критерия может быть включен только один из показателей.

В то же время отек слизистой мягкого неба и глотки также прямо пропорционально коррелирует с гиперемией слизистой, более информативным является отечность послеоперационной области.

Таким образом, в окончательную совокупность показателей для формирования критерия неблагоприятного течения послеоперационного периода включены следующие неблагоприятные факторы:

- наличие кровотечений – 1 балл;
- наличие расхождения швов – 1 балл;
- наличие избыточного и грубого рубцевания – 1 балл;
- время уменьшения болевого синдрома по визуально-аналоговой шкале $\tau \geq 4$ суток;
- отечность слизистой оболочки мягкого неба и тонзиллярных ниш на 7-е сутки >1 – 1 балл.

Сумма баллов по перечисленным негативным факторам представляет собой интегральный критерий [S], характеризующий степень негативного течения послеоперационного периода.

Рассеяние интегрального критерия показано на рисунке 1.

Из приведенной гистограммы видно, что более чем у половины пациентов значение критерия равно нулю. По мере увеличения интегрального критерия количество наблюдений уменьшается. Значение критерия больше 1 наблюдается у 31% пациентов, больше 2 – у 17%, больше 3 – у 7%.

Таким образом, исходя из оптимальной насыщенности группы риска, пограничным значением критерия было выбрано 2 балла. При значениях критерия $S > 2$ течение послеоперационного периода следует признать неблагоприятным. К этой категории относится 17% пациентов.

Распределение критерия послеоперационного течения заболевания в группах пациентов с различной степенью тяжести заболевания показано на рисунке 2.

В группах с неосложненным храпом и СОАС легкой степени нет пациентов, соответ-

ствующих условию $S > 2$. Из пациентов с СОАС средней степени критерию соответствуют более 25%, тяжелой степени – более 50%. Таким образом, подтверждается предположение, что не только степень тяжести СОАС определяет течение послеоперационного периода и частоту развития послеоперационных осложнений.

Соответственно интегральному критерию пациенты ($n=75$) разделены на основную группу, в которую вошли лица с $S \leq 2$ ($n=62$), и группу с неблагоприятным течением ($n=13$). Сравнение показателей течения послеоперационного периода представлено в таблице 1.

В группе с неблагоприятным течением все показатели отличаются отрицательной динамикой в сравнении с основной группой: количество дней, проведенных в стационаре, больше в 1,6 раза, а время уменьшения интенсивности болевого синдрома больше в 2 раза. Показатели времени полного очищения от фибрина слизистой глотки и длительности обезболивания соответствуют этой же тенденции с несколько более низкими численными значениями отношения (Манна-Уитни, $p < 0,001$).

На рисунке 3 показана динамика уменьшения интенсивности болевого синдрома в послеоперационном периоде для группы с неблагоприятным течением и основной группы.

Значительные различия в скорости уменьшения интенсивности болевого синдрома хорошо видны на приведенном рисунке. Значения показателя на 7-е сутки различаются в 2 раза, а на 10-е сутки – в 3 раза. Аналогичная картина наблюдается в отношении частоты встречаемо-

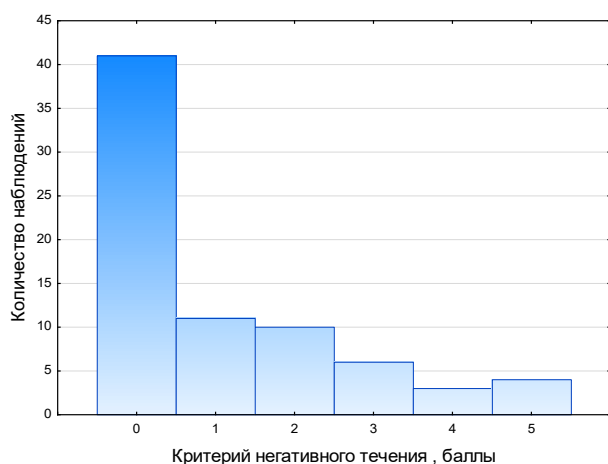


Рисунок 1 – Гистограмма распределения интегрального критерия неблагоприятного течения послеоперационного периода.

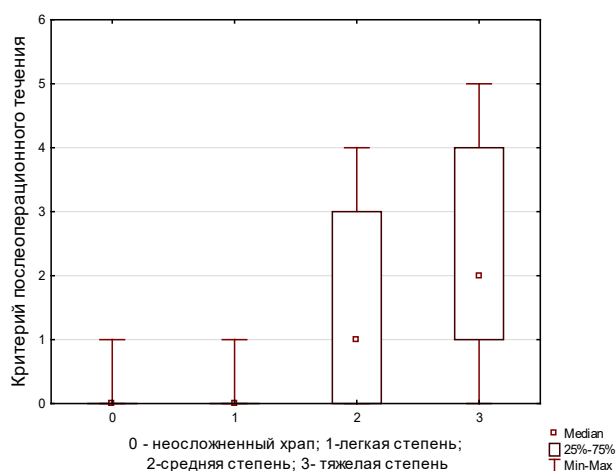


Рисунок 2 – Критерий послеоперационного течения в зависимости от степени тяжести синдрома апноэ во сне.

Таблица 1 – Сравнение послеоперационных показателей в основной группе и группе с неблагоприятным течением послеоперационного периода

Показатель, сутки	Основная группа, n=62		Группа неблагоприятного течения, n=13		p
	Медиана (min-max)	LQ-UQ	Медиана (min-max)	LQ-UQ	
Длительность стационарного лечения	7,5 (4-14)	7-8	12,0 (6-15)	8-13	<0,001
Время уменьшения интенсивности болевого синдрома по ВАШ (τ)	2,4 (0,5-7,5)	1,6-2,6	4,8 (1,4-8,0)	2,6-5,5	<0,001
Длительность очищения от фибринозного налета тонзиллярных ниш и мягкого неба	12 (10-16)	11-14	15 (13-17)	14-15	<0,001
Длительность приема обезболивающих лекарственных средств	3 (2-5)	3-4	4 (3-6)	4-5	<0,001

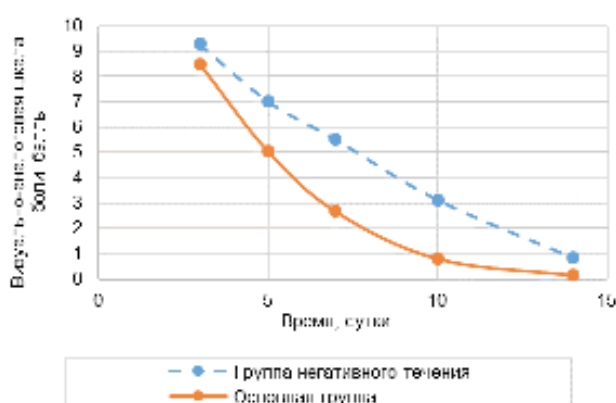


Рисунок 3 – Динамика интенсивности болевого синдрома по визуально-аналоговой шкале.

сти осложнений в послеоперационном периоде (табл. 2).

В группе с неблагоприятным течением послеоперационного периода вероятность расхождения швов выше в 6,5 раза, кровотечения – в 14 раз, избыточного рубцевания – в 30 раз ($p<0,001$), по сравнению с основной группой. Установлено, что в основной группе в среднем на пациента приходится 0,2 осложнения, в группе неблагоприятного течения – 2,15 осложнения.

Таким образом, разработанный интегральный критерий полно и объективно характеризует неблагоприятное течение послеоперационного периода.

Заключение

1. Разработан интегральный критерий течения послеоперационного периода, представляющий собой сумму негативных факторов: кровотечение, расхождение швов, избыточное рубцевание, время уменьшения болевого синдрома по визуально-аналоговой шкале $\tau \geq 4$ суток, отек слизистой на 7-е сутки > 1 балла по 3-балльной визуально-аналоговой шкале. При значениях критерия $S > 2$ (больше двух негативных факторов) течение послеоперационного периода является неблагоприятным. Наличие интегрального дихотомического критерия позволит разработать математическую модель прогнозирования течения послеоперационного периода.

2. В группе с неблагоприятным течением послеоперационного периода медиана длительности стационарного лечения составила 12 койко-дней (интерквартильный диапазон 8-13) против 7,5 койко-дней в основной группе (интерквар-

Таблица 2 – Сравнение числа осложнений в исследуемых группах

Показатель	Основная группа, n=62		Группа неблагоприятного течения, n=13		p
	Число	Доля	число	Доля	
Расхождение швов	8	13%	11	85%	<0,001
Кровотечение	3	5%	9	69%	<0,001
Избыточное и грубое рубцевание	1	2%	8	62%	<0,001

тельный диапазон 7-8). В группе с неблагоприятным течением послеоперационного периода время уменьшения болевого синдрома больше в 2 раза: 4,8 суток (интерквартильный диапазон 2,6-5,5) против 2,4 суток в основной группе (интерквартильный диапазон 1,6-2,6) ($p<0,001$).

3. Вероятность осложнений в группе с неблагоприятным течением значительно выше в сравнении с основной группой: расхождение швов в 6,5 раза (85% против 13%), кровотечение в 14 раз (69% против 5%), избыточное и грубое рубцевание в 31 раз (62% против 2%) ($p<0,001$).

Литература

1. Колядич, Ж. В. Анализ диагностической значимости эндоскопического исследования верхних дыхательных путей у пациентов с синдромом обструктивного апноэ во сне / Ж. В. Колядич // Рос. оториноларингология. – 2014.

References

1. Kolyadich ZhV. Analysis of diagnostic significance of upper respiratory endoscopic examination in patients with obstructive sleep apnea syndrome. Ros Otorinolaringologiya. 2014;(6):57-61. (In Russ.)
2. Ovechkin AM, Polotov ME. Postoperative analgesia in terms of evidence-based medicine. Vestn Intensiv Terapii. 2016;(2):51-60. (In Russ.)
3. Aksoy EA, Serin GM, Polat S, Ünal ÖF, Tanyeri H. Comparison of postoperative bleeding between submucosal uvulopalatopharyngoplasty and tonsillectomy. J Res Med Sci. 2014 Apr;19(4):310-3.

- № 6. – С. 57–61.
2. Овечкин, А. М. Послеоперационное обезболивание с точки зрения доказательной медицины / А. М. Овечкин, М. Е. Политов // Вестн. интенсив. терапии. – 2016. – № 2. – С. 51–60.
3. Comparison of postoperative bleeding between submucosal uvulopalatopharyngoplasty and tonsillectomy / E. A. Aksoy [et al.] // J. Res. Med. Sci. – 2014 Apr. – Vol. 19, N 4. – P. 310–313.
4. Analysis of bleeding cause after uvulopalatopharyngoplasty with endotherm knife / G. Yang [et al.] // Lin. Chung. Er. Bi. Yan. Hou. Tou. Jing. Wai. Ke. Za. Zhi. – 2015 Oct. – Vol. 29, N 19. – P. 1710–1720.
5. Predictive factors of immediate postoperative complications after uvulopalatopharyngoplasty / J. A. Kim [et al.] // Laryngoscope. – 2005 Oct. – Vol. 115, N 10. – P. 1837–1840.
6. Huskisson, E. C. Measurement of pain / E. C. Huskisson // Lancet. – 1974 Nov. – Vol. 2, N 7889. – P. 1127–1131.
7. Оптимизация послеоперационного периода у больных хроническим тонзиллитом / В. М. Свистушкин [и др.] // Рус. мед. журн. – 2015. – Т. 23, № 6. – С. 326–331.

Поступила 18.07.2018 г.

Принята в печать 29.11.2018 г.

4. Yang G, Cun L, Ma Y, Duan J. Analysis of bleeding cause after uvulopalatopharyngoplasty with endotherm knife. Lin Chung Er Bi Yan Hou Tou Jing Wai Ke Za Zhi. 2015 Oct;29(19):1710-2.
5. Kim JA, Lee JJ, Jung HH. Predictive factors of immediate postoperative complications after uvulopalatopharyngoplasty. Laryngoscope. 2005 Oct;115(10):1837-40. doi: 10.1097/01.mlg.0000173199.57456.2b
6. Huskisson EC. Measurement of pain. Lancet. 1974 Nov;2(7889):1127-31.
7. Svistushkin VM, Nikiforova GN, Dedova MG, Shevchik EA. Postoperative optimization in patients with chronic tonsillitis. Rus Med Zhurn. 2015;23(6):326-31. (In Russ.)

Submitted 18.07.2018

Accepted 29.11.2018

Сведения об авторах:

Макарина-Кибак Л.Э. – д.м.н., доцент, Республиканский научно-практический центр оториноларингологии;
Еременко Ю.Е. – д.м.н., доцент, Республиканский научно-практический центр оториноларингологии;
Корнелюк О.А. – аспирант очной формы обучения, Республиканский научно-практический центр оториноларингологии;
Мириленко А.П. – к.т.н., доцент кафедры проектирования и моделирования, Белорусский государственный аграрный технический университет.

Information about authors:

Makaryna-Kibak L.E. – Doctor of Medical Sciences, associate professor, Republican Scientific and Practical Centre of Otorhinolaryngology;
Yaromenka Y.E. – Doctor of Medical Sciences, associate professor, Republican Scientific and Practical Centre of Otorhinolaryngology;
Karnialiuk V.A. – postgraduate, Republican Scientific and Practical Centre of Otorhinolaryngology;
Mirylenska A.P. – Candidate of Technical Sciences, associate professor of the Chair of Designing & Modelling, Belarusian State Agrarian Technical University.

Адрес для корреспонденции: Республика Беларусь, 220113, г. Минск, ул. Л.Беды, 45-119. E-mail: olsol70@mail.ru – Корнелюк Ольга Александровна.

Correspondence address: Republic of Belarus, 220113, Minsk, 45 L. Bedy str., 119. E-mail: olsol70@mail.ru – Volha A. Karnialiuk.

АНАЛИЗ АССОРТИМЕНТА И СТОИМОСТИ АНТИСЕПТИЧЕСКИХ СРЕДСТВ ДЛЯ НАРУЖНОГО ПРИМЕНЕНИЯ

АДАМЕНКО Г.В.¹, БУРАК И.И.¹, СТРИГО Е.С.²

¹Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет, г. Витебск, Республика Беларусь

²Аптека №245, г. Витебск, Республика Беларусь

Вестник ВГМУ. – 2018. – Том 17, №6. – С. 106-111.

ASSORTMENT AND COST ANALYSIS OF ANTISEPTIC AGENTS FOR EXTERNAL USE

ADAMENKO G.V.¹, BURAK I.I.¹, STRIGO E.S.²

¹Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University, Vitebsk, Republic of Belarus

²Chemist's shop No. 245, Vitebsk, Republic of Belarus

Vestnik VGMU. 2018;17(6):106-111.

Резюме.

Изучены основные показатели ассортимента антисептических средств для наружного применения, зарегистрированных в Республике Беларусь, со сравнительной оценкой их стоимости и экономической эффективности.

Анализ ассортимента средств для профилактической антисептики кожи по показателям широты, глубины и насыщенности показал, что ассортимент является негармоничным и подтвердил актуальность разработки новых качественных, безопасных и эффективных средств для профилактической антисептики кожи.

Полученные результаты исследований позволяют заключить, что стоимость выпускаемого ОАО «Бобруйский завод биотехнологий» антисептика «Витасепт-СКЗ» в 3,4 раза дешевле отечественного антисептика «Септоцид Р Плюс», в 4,2 раза дешевле «Септоцид-Синерджи» и в 4,4 раза дешевле «Инол». «Витасепт-СКЗ» был в 39,9 раза дешевле импортируемого средства «Стериллиум» и в 59,6 раза дешевле «Кутасепт Ф и Г». Стоимость выпускаемого ОАО «Бобруйский завод биотехнологий» антисептика «Витасепт-СКО» в 3,1 раза дешевле «Хлоргексидина-Фармлэнд» и в 4,8 раза дешевле «Хлоргексидин биглюконат» производства СП ООО «Фармлэнд» и РУП «Белмедпрепараты». Сравнительная оценка стоимости разработанных нами и выпускаемых ОАО «Бобруйский завод биотехнологий» «Витасепт-СКЗ» и «Витасепт-СКО» указывает, что приобретение разработанных антисептиков позволит организациям здравоохранения экономить значительные денежные средства

Ключевые слова: ассортимент, контент-анализ, широта, глубина, насыщенность.

Abstract.

The main indices of the assortment of antiseptics for external use, registered in the Republic of Belarus, with the comparative assessment of their cost and economic efficiency were studied.

The analysis of the offer range of agents for preventive skin antiseptics in terms of width, depth and saturation has shown that the assortment is inharmonious and confirmed the urgency of developing new, high-quality, safe and effective agents for preventive skin antiseptics.

The investigation results obtained have shown that the cost of the antiseptic «Vitasept-SKZ» produced by JSC «Bobruisk plant of biotechnologies» is 3,4 times cheaper than that of the domestic antiseptic «Septotsid R Plus», 4,2 times cheaper than that of «Septotsid-Synergy», and 4,4 times cheaper than that of «Inol». The antiseptic «Vitasept-SKZ» was 39,9 times cheaper than the imported agent «Sterillium» and 59.6 times cheaper than «Kutasept F and G». The cost of the antiseptic «Vitasept-SKO» is 3,1 times cheaper than that of «Chlorhexidine-Farmland» and 4.8 times cheaper than that of «Chlorhexidine bigluconate» produced by «Farmland» and «Belmedpreparaty».

A comparative assessment of the cost of «Vitasept-SKZ» and «Vitasept-SKO» developed by us and manufactured by JSC «Bobruisk plant of biotechnologies» indicates that the purchase of the developed antiseptics will allow healthcare organizations to save considerable money resources.

Key words: assortment, content-analysis, width, depth, saturation.

Обеспечение населения отечественными лекарственными средствами является важнейшей составной частью политики в области лекарственной безопасности государства. В Республике Беларусь промышленное производство лекарственных средств осуществляют 28 субъектов хозяйствования, которые обеспечивают устойчивую тенденцию ежегодного увеличения регистрации новых лекарственных средств отечественного производства. На фармацевтическом рынке в Республике Беларусь присутствуют оригинальные и генерические лекарственные средства. Если первые отличаются от всех ранее зарегистрированных лекарственных средств фармакологически активным веществом или комбинацией таких веществ, то генерические лекарственные средства содержат ту же фармацевтическую субстанцию или комбинацию фармацевтических субстанций в той же лекарственной форме, что и оригинальные лекарственные средства [1, 2].

В соответствии с Федеральным законом Российской Федерации «Об обращении лекарственных средств» оригинальный препарат отличается от всех ранее зарегистрированных действующим веществом или комбинацией действующих веществ, эффективность и безопасность которых подтверждены результатами доклинических и клинических исследований [3].

Согласно Правилам регистрации и экспертизы лекарственных средств для медицинского применения Евразийской экономической комиссии различают оригинальные, воспроизведенные и гибридные лекарственные препараты. Оригинальный лекарственный препарат – это лекарственный препарат с новым действующим веществом, который был первым зарегистрирован и размещен на мировом фармацевтическом рынке на основании досье, содержащего результаты полных доклинических и клинических исследований, подтверждающих его качество, безопасность и эффективность. Под воспроизведенным лекарственным препаратом, или дженериком, понимают лекарственный препарат, который имеет такой же количественный и качественный состав действующих веществ и ту же лекарственную форму, что и оригинальный препарат, и биоэквивалентность которого подтверждена соответствующими исследованиями биодоступности. Гибридный лекарственный препарат – лекарственный препарат, не подпадающий под определение воспроизведенного лекарственного пре-

парата при невозможности подтверждения его биоэквивалентности с помощью исследований биодоступности, а также в случае, если в данном препарате произошли изменения действующих веществ, показаний к применению, дозировки, лекарственной формы или пути введения по сравнению с оригинальным препаратом [4].

В странах ЕС и США в отношении лекарственных средств широко применяется термин «инновационный препарат (бренд)», под которым понимают новую активную субстанцию или уже известную субстанцию, применяемую по новым показаниям, в другой дозе либо иным путем введения [5].

В Республике Беларусь по состоянию на 01.03.2015 г. зарегистрировано 6193 наименования лекарственных средств и фармацевтических субстанций, в том числе 4995 наименований лекарственных средств, 1393 из которых – отечественного производства. 79 лекарственных средств являются оригинальными (произведены из отечественных субстанций), 1291 наименование лекарственных средств является генерическим, то есть полной копией импортных аналогов, 23 наименования – инновационными лекарственными средствами [6]. На 1 марта 2017 года в стране зарегистрировано 4,5 тыс. лекарственных средств, в том числе 1,6 тыс. – отечественного производства.

Для профилактики инфекционных болезней, в том числе инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи, широко применяются антисептические средства. Антисептическое лекарственное средство – это лекарственное средство, обладающее противомикробным, противовирусным, противопаразитарным, противогрибковым действием и используемое преимущественно для внешнего применения в целях профилактики и лечения инфекционных заболеваний [2].

Важным условием успешного предупреждения инфекционных заболеваний является широкий ассортимент лекарственных средств, под которым понимается определенный их перечень, объединенный по назначению.

Различают промышленный и торговый ассортименты лекарственных средств. Промышленный ассортимент представляет собой совокупность товаров, выпускаемых фармацевтическими предприятиями. Торговый ассортимент – это номенклатура товаров, находящихся в сфере обращения, в частности в оптовом и розничном звеньях. При изучении вопросов анализа

ассортиментной политики в области обеспечения населения и организаций здравоохранения в Республике Беларусь антисептическими лекарственными средствами для наружного применения анализируется промышленный ассортимент отечественного производства и зарегистрированных импортируемых средств [7].

Для детального изучения антисептических лекарственных средств для профилактической антисептики целесообразно применять подходы категорийного менеджмента [8]. Актуальность категорийного менеджмента для поиска необходимых рынку товаров очевидна, так как проблема создания и внедрения в Республике Беларусь рационально сформированного ассортимента лекарственных средств стоит на одном из первых мест. Ассортиментную политику в области обеспечения качественными, безопасными и эффективными лекарственными средствами в Республике Беларусь можно определить как наиболее приоритетное направление. Кроме того, при выборе лекарственного средства необходимо учитывать соотношение «эффективность лекарственного средства – затраты на лечение». Для этого используются фармакоэкономические методы, в частности категорийный менеджмент. Категорийный менеджмент – это процесс управления ассортиментом для удовлетворения потребностей покупателя и нацеленный на повышение бизнес-результатов [8, 9].

Для анализа ассортимента лекарственных средств изучаются основные показатели ассортиментной политики: ширина, глубина, насыщенность, гармоничность. Ширина – это количество представленных ассортиментных групп. Под глубиной подразумевается число вариантов предложений конкретного вида товаров. Насыщенность – это общее число единиц в ассортиментном ряду по каждому варианту исполнения товара. Ширина, насыщенность и глубина товарной номенклатуры для каждого предприятия характеризуются вполне определенными цифрами. Гармоничность товарной номенклатуры не может иметь цифрового выражения и может быть гармоничной или негармоничной [10].

Нами разработаны новые, зарегистрированные в качестве инновационных лекарственных средств, антисептики Витасепт-СКО, Витасепт-СКИ, а также генерическое антисептическое лекарственное средство Витасепт-СКЗ, экономическая эффективность которых окончательно не изучена.

Цель нашего исследования – изучить основные показатели ассортимента антисептических средств для наружного применения, зарегистрированных в Республике Беларусь, со сравнительной оценкой их стоимости.

Материал и методы

Для систематизации сведений о рынке антисептических лекарственных средств для наружного применения Республики Беларусь проведён контент-анализ информационного массива антисептических средств для наружного применения.

Далее изучены основные показатели ассортимента (широта, глубина и насыщенность) антисептических средств для наружного применения, выпускаемых заводами Республики Беларусь, а также импортных антисептических средств для наружного применения, зарегистрированных в Республике Беларусь. На основании полученных данных выделен сегмент жидких антисептических лекарственных средств для профилактической антисептики (манипуляционного, операционного, инъекционного полей, гигиенической и хирургической обработки рук).

Материалами для изучения являлись сайты фармацевтических предприятий Республики Беларусь, НПА Министерства здравоохранения Республики Беларусь и данные о зарегистрированных УП «Республиканский центр экспертиз и испытаний в здравоохранении» антисептических лекарственных средствах.

Изучение стоимости антисептиков проведено на основании прайс-листов из расчёта цены за 1000,0 см³.

Результаты и обсуждение

Результаты исследований показали, что с учётом АТХ-классификации антисептических лекарственных средств их ширина составляет 12 групп: производные акридина, лекарственные средства алюминия, борной кислоты, йода, ртути, серебра, бигуаниды и амидины, фенол и его производные, производные нитрофурана, хинолина, четвертичные соединения аммония и другие антисептики.

В исследуемый сегмент входит 7 групп: бигуаниды и амидина, лекарственные средства борной кислоты, йода, фенол и его производные, производные нитрофурана, четвертичные соединения аммония и другие антисептики.

Глубина средств для профилактической антисептики кожи (операционного, инъекционного полей, гигиенической и хирургической обработки рук) составляла от 1 до 7 наименований. Насыщенность в свою очередь составляла от 3 до 8 наименований ассортимента.

В результате исследований был выделен сегмент жидких антисептических лекарственных средств для антисептической обработки кожи (операционного, инъекционного полей, гигиенической и хирургической обработки рук).

Так, для гигиенической обработки рук выпускается в Республике Беларусь 15 наименований средств. ЗАО «БелАсептика» выпускает 7 средств («Этанол антисептический», «Йодоцид-0,5», «Дермасепт», «Септодез», «Септоцид-Синерджи», «Септоцид ФУД», «Септоцид Р Плюс»). ОАО «Бобруйский завод биотехнологий» выпускает 4 средства («Витасепт-СКО», «Витасепт-СКЗ», «Этанол» и «Протол»), ИП «Инкраслав» – 4 средства («Инол», «Йодискин», «Дезор» и «Септаль»).

Для хирургической обработки рук применяется 5 средств: «Йодоцид-0,5», «Септоцид-Синерджи», «Септоцид Р Плюс», «Протол» и «Инол».

Для обработки кожи инъекционного поля производится 9 средств: «Этанол антисептический», «Йодоцид-0,5», «Септоцид Р Плюс», «Витасепт-СКО», «Витасепт-СКЗ», «Этанол», «Протол», «Инол» и «Йодискин».

Для обработки кожи операционного поля имеется 7 средств: «Йодоцид-0,5», «Септоцид-Синерджи», «Септоцид Р Плюс», «Витасепт-СКО», «Витасепт-СКЗ», «Этанол» и «Йодискин».

Результаты оценки стоимости показали, что стоимость выпускаемых ОАО «Бобруйский

завод биотехнологий» антисептиков «Витасепт-СКЗ», «Витасепт-СКО» на основе разработанных нами средств была 1 руб. 9 коп. и 3 руб. 70 коп. соответственно (табл. 1). Стоимость отечественных антисептических средств «Септоцид-Синерджи», «Септоцид Р Плюс» производства ЗАО «Беласептика», «Инол» производства ИП «Инкраслав», «Хлоргексидина-Фармлэнд» производства СП ООО «Фармлэнд», «Хлоргексидин биглюконат» производства РУП «Белмедпрепараты» составила 8 руб., 6 руб. 44 коп., 8 руб. 30 коп., 11 руб. 40 коп., 17 руб. 8 коп. соответственно (таблица 1). Стоимость импортируемых средств «Кутасепт Ф и Г» и «Стериллиум» производства «Бодехеми», Германия, составил 11 руб. 32 коп. и 75 руб. 80 коп. соответственно в пересчете на 1000,0 см³ (табл. 1).

Полученные результаты исследований позволяют заключить, что стоимость выпускаемого ОАО «Бобруйский завод биотехнологий» антисептика «Витасепт-СКЗ» в 3,4 раза дешевле отечественного антисептика «Септоцид Р Плюс», в 4,2 раза дешевле «Септоцид-Синерджи» и в 4,4 раза дешевле «Инол». «Витасепт-СКЗ» был в 39,9 раза дешевле импортируемого средства «Стериллиум» и в 59,6 раза дешевле «Кутасепт Ф и Г».

Стоимость выпускаемого ОАО «Бобруйский завод биотехнологий» антисептика «Витасепт-СКО» в 3,1 раза дешевле «Хлоргексидина-Фармлэнд» и в 4,8 раза дешевле «Хлоргексидин биглюконат» производства СП ООО «Фармлэнд» и РУП «Белмедпрепараты».

Заключение

Анализ ассортимента средств для профилактической антисептики кожи по показателям

Таблица 1 – Цены на антисептические средства, реализуемые в Республике Беларусь по состоянию на 01.08.2018 г.

Производитель	Наименование антисептика	Цена за 1000,0 см ³ средства, бел. руб.
ЗАО «Беласептика»	«Септоцид Р Плюс» – 1000 мл	6,44
	«Септоцид-синерджи» – 1000 мл	7,99
ОАО «Бобруйский завод биотехнологий»	«Витасепт-СКЗ» – 1000 мл	1,9
	«Витасепт-СКО» – 1000 мл	3,7
ИП «Инкраслав»	«Инол» – 1000 мл	8,3
СП ООО «Фармлэнд»	«Хлоргексидина-Фармлэнд» – 250 мл	11,4
РУП «Белмедпрепараты»	«Хлоргексидин биглюконат» – 100 мл	17,8
Бодехеми, Германия	«Кутасепт Ф и Г» – 50 мл	113,2
Бодехеми, Германия	«Стериллиум» – 50 мл	75,8

широты, глубины и насыщенности показал, что ассортимент является негармоничным и подтвердил актуальность разработки новых качественных, безопасных и эффективных средств для профилактической антисептики кожи.

Сравнительная оценка стоимости разработанных нами и выпускаемых ОАО «Бобруйский завод биотехнологий» «Витасепт-СКЗ» и «Витасепт-СКО» указывает, что приобретение разработанных антисептиков позволит экономить организациям здравоохранения значительные денежные средства.

Литература

1. Годовальников, Г. В. Терминология лекарствоведения / Г. В. Годовальников. – Минск : Минсктиппроект, 2009. – 403 с.
2. О лекарственных средствах [Электронный ресурс] : Закон Респ. Беларусь, 20 июля 2006 г., № 161-3 : (в ред. Закона Респ. Беларусь № 27-3 от 27 дек. 2014 г.) // Бизнес-инфо. Аналитическая правовая система / ООО «Профессиональные правовые системы». – Минск, 2018.
3. О внесении изменений в Федеральный закон «Об обращении лекарственных средств» : Федеральный закон от 11 окт. 2010 г. № 271-ФЗ // Рос. газета. – 2010. – 15 окт. (№ 5315). – С. 19.

4. О правилах регистрации и экспертизы лекарственных средств для медицинского применения [Электронный ресурс] : решение Совета Евраз. эконом. комиссии, 3 нояб. 2016 г., № 78 // Бизнес-инфо. Аналитическая правовая система / ООО «Профессиональные правовые системы». – Минск, 2018.
5. Инновационные лекарственные средства и интеллектуальная собственность: вопросы охраны и защиты / сост.: А. Н. Сычев [и др.]. – Минск : ДокторДизайн, 2011. – 46 с.
6. Лекарственные средства отечественных фармпроизводителей – гарантированное белорусское качество / Центр экспертиз и испытаний в здравоохранении, УП «ЛОТИОС». – Минск, 2015. – 274 с.
7. Котлер, Ф. Основы маркетинга : проф. изд. : пер. с англ. / Ф. Котлер, Г. Армстронг. – 12-е изд. – М. : Вильямс, 2009. – 1072 с.
8. Барнатович, С. В. Исследования современного состояния управления ассортиментом лекарственных средств в аптечной сети на региональном фармацевтическом рынке / С. В. Барнатович // Рецепт. – 2014. – № 5. – С. 36–43.
9. Старовойтова, С. М. Ассортиментная политика аптечной организации: категорийный менеджмент и управление ассортиментом / С. М. Старовойтова // Вестн. фармации. – 2016. – № 2. – С. 99–102.
10. Мнушко, З. Н. Менеджмент и маркетинг в фармации. Ч. II. Маркетинг в фармации : учеб. для студентов вузов / З. Н. Мнушко, Н. М. Дихтярева ; под ред. З. Н. Мнушко. – 2-е изд. – Харьков : Изд-во НФаУ : Золотые с., 2008. – 536 с.

Поступила 04.10.2018 г.
Принята в печать 29.11.2018 г.

References

1. Godoval'nikov GV. Terminology of pharmacology. Minsk, RB: Minsktipproekt; 2009. 403 p. (In Russ.)
2. On medicines [Elektronnyi resurs]: Zakon Resp Belarus', 20 iul'ia 2006 g, № 161-3: (v red Zakona Resp Belarus' № 27-Z ot 27 dek 2014 g). OOO «Professional'nye pravovye sistemy». Biznes-info. Analiticheskaiia pravovaia sistema. Minsk, RB; 2018. (In Russ.)
3. About modification of the Federal law «On the address of medicines»: Federal'nyi zakon ot 11 okt 2010 g. № 271-FZ. Ros Gazeta. 2010;15 okt (№ 5315):19. (In Russ.)
4. About rules of registration and examination of medicines for medical application [Elektronnyi resurs]: reshenie Soveta Evraz ekonom komissii, 3 noiab.2016 g, № 78. OOO «Professional'nye pravovye sistemy». Biznes-info. Analiticheskaiia pravovaia sistema. Minsk, RB; 2018. (In Russ.)
5. Sychev AN, Lyukovich V B, Polonik IS, Vashuk GV, Lando DD, sost. Innovative Medicines and Intellectual Property:

- Protection and Protection Issues. Minsk, RB: DoktorDizain; 2011. 46 p. (In Russ.)
6. Tsent' ekspertiz i ispytani' v zdravookhraneni', UP «LOTIOS». Medicines of domestic pharmaceutical manufacturers-guaranteed Belarusian quality. Minsk, RB; 2015. 274 p. (In Russ.)
7. Kotler F, Armstrong G. Marketing basics: prof izd: per s angl. 12-e izd. Moscow, RF: Vil'iams; 2009. 1072 p. (In Russ.)
8. Barnatovich SV. Studies of the current state of management of the range of medicines in the pharmacy network in the regional pharmaceutical market. Retsept. 2014;(5):36-43. (In Russ.)
9. Starovoytova SM. Assortment policy of pharmacy organization: category management and assortment management. Vestn Farmatsii. 2016;(2):99-102. (In Russ.)
10. Mnushko ZN, Dikhtyareva NM; Mnushko ZN, red. Management and marketing in pharmacy. Ch II Marketing in pharmacy: ucheb dlia studentov vuzov. 2-e izd. Kharkov, Ukraina: Izd-vo NFaU: Zoloty e s; 2008. 536 p. (In Russ.)

Submitted 04.10.2018
Accepted 29.11.2018

Сведения об авторах:

Адаменко Г.В. – старший преподаватель кафедры организации и экономики фармации с курсом ФПК и ПК, Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет;
Бурак И.И. – д.м.н., профессор, заведующий кафедрой общей гигиены и экологии, Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет;
Стриго Е.С. – провизор-интерн, аптека №245 г.Витебска.

Information about authors:

Adamenko G.V. – senior lecturer of the Chair of Organization & Economy of Pharmacy with the course of the Faculty for Advanced Training & Retraining, Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University;
Burak I.I. – Doctor of Medical Sciences, professor, head of the Chair of General Hygiene & Ecology, Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University;
Strigo E.S. – pharmacist-intern, chemist's shop No. 245 of the city of Vitebsk.

Адрес для корреспонденции: Республика Беларусь, 210009, г. Витебск, пр. Фрунзе, 27, Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет, кафедра организации и экономики фармации с курсом ФПК и ПК. E-mail: geniusadam@mail.ru – Адаменко Геннадий Владимирович.

Correspondence address: Republic of Belarus, 210009, Vitebsk, 27 Frunze ave., Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University, Chair of Organization & Economy of Pharmacy with the course of the Faculty for Advanced Training & Retraining. E-mail: geniusadam@mail.ru – Gennadiy V. Adamenko.

КОМПЕТЕНТНОСТНЫЙ ПОДХОД И КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА МЕДИЦИНСКОГО ОБРАЗОВАНИЯ: ИСТОРИЧЕСКИЙ АСПЕКТ И АНАЛИЗ СОВРЕМЕННОГО СОСТОЯНИЯ ПРОБЛЕМЫ

КОРОЛЬКОВА Н.К., БИЗУНКОВ А.Б.

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

Вестник ВГМУ. – 2018. – Том 17, №6. – С. 112-120.

COMPETENCY-BASED APPROACH AND QUALITY CONTROL OF MEDICAL EDUCATION: HISTORICAL ASPECT AND ANALYSIS OF THE MODERN STATE OF THE PROBLEM

KARALKOVA N.K., BIZUNKOV A.B.

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

Vestnik VGMU. 2018;17(6):112-120.

Резюме.

Целью работы явился анализ подходов к оценке эффективности компетентностной модели оценки качества подготовки специалистов-медиков в странах ближнего и дальнего зарубежья. Внедрение компетентностного подхода в том виде, в котором он был изначально предложен, связано со значительными трудностями, главными из которых являются отсутствие консенсуса по содержанию компетенций, значительная затратность метода и отсутствие убедительных доказательств роста качества образования при его использовании. Основной особенностью применения компетентностного подхода в постсоветской высшей школе является часто наблюдаемая редукция понятия «компетенция» до уровня «знаний-умений-навыков». Наибольшие сложности реализация компетентностной модели встречает при ее использовании для оценки уровня освоения одной отдельно взятой клинической дисциплины. Анализ имеющихся в настоящее время трендов в высшей медицинской школе показал, что оптимальным решением этой проблемы, наиболее близким к принципам компетентностной модели, является оценка истории болезни, понимаемой не как текст, а как процесс ее создания, чем механическая фрагментация экзамена на практические навыки и формализованные знания в виде тестов.

Ключевые слова: компетентностный подход, контроль качества, компетенции, педагогика высшей школы, качество образования.

Abstract.

The purpose of this work was to assess the effectiveness of competency-based model introduced into medical education in the world and post-Soviet countries. The investigation revealed that applying competency-based methodology, as it was originally conceived, was connected with some significant difficulties. The most important of them were: lack of consensus concerning the competency conception, high costs of the method, scarcity of convincing evidence that the new approach is more effective than the previous one. The most common challenge of the competency-based model usage in post-Soviet countries is vagueness of the competency concept and its reduction to conventional methodology of knowledge-abilities-skills estimation. The introduction of the competency-based model is associated with the greatest difficulties when using it for the evaluation of the mastery of a clinical discipline taken separately. The analysis of the existing modern trends in the world higher medical school has shown that the assessment of a case history, understood not as a final text but as a process of its creation, is much closer to the idea of competency-based education than the mechanical fragmentation of an exam into practical skills and formalized knowledge in the form of computer tests.

Key words: competency-based model, quality control, competencies, higher school pedagogy, education quality.

Эксперты называют переход от традиционной системы оценки качества подготовки врача через знания-умения-навыки к компетентностной модели самой грандиозной и революционной реформой медицинского образования за последние четыре столетия [1]. Последний раз событие похожей исторической значимости имело место в 17-м веке, когда в европейских университетах студенты-медики впервые начали работать с пациентами, хотя до того учились медицине исключительно по книгам. Фактически в дискуссиях по компетентностному подходу речь идет о том, чтобы наконец идентифицировать и оформить те основные компоненты, из которых складывается реальная врачебная деятельность и вести подготовку врача в строгом соответствии с полученными результатами. Однако до сих пор, несмотря на почти тысячелетнюю историю преподавания медицины в Европе, эти составляющие так и не были найдены, а подготовка врача по-прежнему основана исключительно на теоретическом представлении о том, каким он должен быть, что должен знать и что уметь. Не существует научного обоснования тому, какой объем микробиологии, физиологии или гистологии и т.д. должен освоить врач общей практики, работник стационара или любой другой медицинский специалист для того, чтобы исполнять свои обязанности с соответствующим уровнем качества. Сколько офтальмологии должен знать гинеколог и сколько проктологии оториноларинголог, до сих пор также неизвестно. Нет научной доказательной базы и под перечнем дисциплин, якобы, необходимых для изучения студентами учреждений высшего медицинского образования.

Результаты подобной подготовки известны. О них в феврале 2018 года в Брюсселе на конгрессе Европейского Союза медицинских специалистов говорил один из ведущих мировых экспертов в области педагогики высшей школы профессор О. тен Кате из университетского центра в Утрехте (Нидерланды), обосновывая настоятельную необходимость перехода к новым принципам оценки качества врачебной подготовки [2]. В своем докладе он ссылаясь на отчет Американской Комиссии по качеству медицинской помощи, в котором указано, что количество смертей от медицинских ошибок в США примерно равно сумме смертей от автомобильных катастроф, рака молочной железы и СПИДа. Неудовлетворенность качеством медицинского образования во всем мире является основным и самым весомым стимулом, заставляющим искать более совершенные формы оценки подготовки специалистов.

Краткая история вопроса

В СССР реальная оценка способностей выпускника вуза не имела большого смысла, поскольку существовало понятие молодой специалист. Было очевидным для всех, что запись в дипломе об окончании учебного заведения не означает, что обладатель этого диплома является профессионалом в своей области. При хорошем стечении обстоятельств он мог им стать после практической работы по обязательному распределению в течение определенного срока. В условиях рынка шансы устроиться на работу у такого выпускника крайне низки, поэтому университеты, работающие в подобном формате, заинтересованы в подготовке выпускников, способных выполнять свою работу с требуемым уровнем качества.

Считают, что первые зерна сомнений относительно качества высшего образования в педагогику бросил Ральф Тайлер в 1949 году, когда вышла его самая известная книга *Basic Principles of Curriculum and Instruction*, которая стала бестселлером и выдержала 36 изданий, и была посвящена теме оценки качества учебных программ [3]. Он предложил революционную для того времени идею о том, что учебные программы должны меняться под потребности времени и первым задался вопросом, как же все-таки оценить качество образования и, в первую очередь, высшего. Ему принадлежит фраза: «Студент по-настоящему может изучить только то, что делает сам, а не то, что делает преподаватель».

Это был фундамент принципиально новой концепции отношения к высшему образованию не как к процессу, ценность которого состояла в нем самом, а как к результату, требующему своих технологий оценки качества. Следующим этапом на этом пути можно считать идеи американского психолога Бенджамина Блума, предложившего классификацию педагогических целей (1956), которые необходимо достичь в процессе обучения [4]. По мнению автора, их три: когнитивные (знания), психомоторные (практические навыки, выполняемые руками) и аффективные (ответ на мировоззренческий вопрос «кто я?»). Фактически за последние полвека сюда никто не добавил ничего нового. До сих пор традиционная оценка качества образования проводится в соответствии с выделенными им сегментами в виде триады «знания-умения-навыки».

Параллельно усиливался интерес к экономическому аспекту высшего образования. Предполагалось, что человек, закончивший университет, должен иметь конкурентные преимущества на рынке труда. В конце 1970-х в работу учреждений,

занимающихся профессиональным образованием, стало внедряться новое понятие «трудовая компетенция», предполагающая практическую готовность осуществлять необходимый вид деятельности без предварительных стажировок. Помимо высокого уровня овладения практическими навыками трудовая компетенция предполагала наличие гибкости, коммуникабельности, способности встроиться в коллектив и других свойств работника, обеспечивающих ему определенные конкурентные преимущества.

Характерно, что университеты долго противились этим новшествам, внедряемым самой жизнью, считая, что жесткое подчинение требованиям бизнес-среды может разрушить классическую систему университетского образования. Как показали последующие десятилетия, опасения были не напрасными, однако противопоставить этому некую иную стратегию оказалось фактически невозможно.

В медицинском образовании реформация началась в 1978 году с публикации Всемирной Организацией Здравоохранения 90-страничной методички, разработанной в Центре развития образования университета штата Иллинойс Competency-based curriculum development in medical education. Уже тогда проблема того, что студентов-медиков в значительной степени учат не тому, чему надо, стояла во весь рост, чему авторами отчета приведены многочисленные соответствующие доказательства [5]. Основная идея проекта состояла в том, чтобы отказаться от оценки формализованных знаний и фрагментированных навыков, перейдя к оценке способности диагностировать заболевание и лечить пациента. Долгие годы предложение оставалось яркой декларацией намерений, и только на пороге нового тысячелетия интерес к оценке компетенций возрос настолько, что в литературе началось обсуждение сложностей его внедрения в практику. В 1999 году американский аккредитационный совет впервые предложил определения и критерии достижения для шести основных компетенций, которыми должно оцениваться подготовка студента-медика и впоследствии врача-специалиста [6].

В 2009 году сторонники компетентностного подхода в медицинском образовании создали международную организацию, которая была призвана оказывать методическую помощь в преодолении проблем, связанных с его практическим использованием: International Competency-Based Medical Education Collaborations. Организация наметила конкретные планы по широкому распространению

методики по всему миру. Однако, как это следует из решений ее второго конгресса, состоявшегося в 2013 году, за истекший период намеченные цели так и не были достигнуты. Поэтому решения второго конгресса были уже более сдержанными и была заявлена цель попытаться все-таки внедрить в практику идею компетентностного подхода к оценке подготовленности сначала студента-медика, а потом и врача при сдаче им квалификационных экзаменов. В первую очередь, было принято решение стандартизировать языковой аппарат, используемый для описания нового подхода и результатов, получаемых с его помощью, унифицировать методики оценки компетенций и обозначить поле для дальнейших научных исследований в этой области.

Что мешает реально перейти к компетентностной модели

Несмотря на старания сторонников нового подхода к оценке качества высшего медицинского образования, в настоящее время доминирует традиционная, центрированная на учебном предмете и времени, выделяемом на его изучение, модель [7]. Она характеризуется преимущественной ориентацией на знания, в ущерб другим целям образовательного процесса (формирование мотиваций, личностное развитие), оценки достижений обучаемых, как правило, являются итоговыми и фактически не предполагают возможности их последующего изменения, обратная связь между обучающим и обучаемым развита слабо. В итоге нередко ситуации, когда даже очень высокий достигнутый уровень знаний не трансформируется в успешную профессиональную деятельность.

Например, в США Accreditation Council of Graduate Medical Education выделяет шесть основных компетенций для медицинских специалистов, которые должны быть оценены: лечение пациента, медицинские знания, способность совершенствоваться в профессии, навыки межличностной коммуникации, ответственность за пациента, профессию и общество, понимание и использование в своей медицинской практике ресурсов системы здравоохранения [8]. Три базовые шкалы для оценки уровня освоения образовательной программы выпускниками учреждений высшего медицинского образования применяет британский национальный сертификационный центр General Medical Council: врач обучающийся, врач практикующий и врач-исследователь [9]. По мнению Royal College of Physicians and Surgeons (Канада), врачу должны быть присущи 7 видов компетенций. Он должен

быть экспертом в своей специальности; уметь строить эффективную коммуникацию с пациентами, сотрудниками, руководством; уметь работать в команде со своими коллегами; уметь пропагандировать здоровый образ жизни, обладать организаторскими способностями, уметь обучаться и, наконец, быть ответственным за пациентов, профессию и общество [10]. Похожие компетенции утвердил своим решением и Medical Council of India в 2015 году [7]. Несмотря на некоторые незначительные разночтения, перечень компетенций, требуемых от врача, примерно одинаков не только в рамках западной модели медицинского образования, но и в других странах мира (Индия, Китай, Россия).

Повсеместно выделяется несколько видов компетенций, и эксперты сходятся в том, что компетенция как готовность и способность делать какую-либо работу с соответствующим уровнем качества в условиях сложившейся ситуации может быть оценена только в ходе самого этого процесса, т.е. только непосредственно в результате выполнения того вида деятельности, для которого готовился специалист [11]. Если речь идет о медицине, то только в процессе диагностики и лечения конкретного пациента оцениваются все виды компетенций и большой ошибкой является оценка каждого вида компетенций в отдельности [12]. Несмотря на несколько десятилетий непрерывных попыток перейти на компетентностную модель оценки подготовки специалиста-медика, консенсус на Западе в этом вопросе по-прежнему не достигнут. Одни полагают, что терминология, используемая в новой модели, остается неодинаково понимаемой в разных школах и в разных странах [1, 12], другие считают, что вместо оценки конкретных поведенческих реакций специалиста предлагается оценивать спорные абстракции [13]. Продолжают дебатироваться разные определения и самого понятия «компетенция» и его наполнение конкретным содержанием [10]. Если применение компетентностного подхода для оценки способностей специалиста на последипломном этапе представляется более понятным, то на додипломном этапе его внедрение сопряжено с большими трудностями, связанными, в первую очередь, с оценкой качества и самих учебных программ и академических достижений обучаемых [14]. Высказываются предложения, что следует вообще отказаться от самой идеи оценки компетенций, так как это практически невозможно из-за очень размытого оцениваемого понятия [15]. Специалисты сходятся во мнении, что понятие «компетенция» нельзя редуцировать до от-

дельных составляющих его элементов, которые, в свою очередь могут быть легко оценены, так как для этого есть необходимые инструменты и возможности. Следует иметь в виду, что как только происходит подобная редукция, компетенция как исследуемый объект фактически исчезает, и оценке подвергаются все те же знания-умения-навыки, как это предполагает традиционная модель.

На уровне деклараций и намерений компетентностный подход к подготовке врача привлекает тем, что обучение специалиста ориентировано исключительно на то, что необходимо в его работе после окончания вуза, а перечень компетенций определяется потребностями пациентов и запросами общества [10, 16]. Но на деле оказывается, что появление компетенции не всегда является прямым следствием процесса обучения, а именно, что жесткой прямой корреляции между напряженностью педагогического процесса и рождением той или иной компетенции не существует. Компетенция появляется только как результат личностного развития, результат переосмысления собственного практического опыта.

Как итог, есть мнение, что компетентностная модель сама по себе не способна дать обществу специалиста более высокого уровня, чем тот, который сегодня обеспечивает модель традиционная [13]. Другие авторы высказывают непонимание, почему компетентностная модель позиционируется как заведомо лучшая система оценки качества, если на сегодняшний день пока не получено ни одного доказательства этому [17] и опасение, что переход на компетентностную модель может угрожать всей системе подготовки медицинских кадров [11].

Что касается использования компетентностного подхода в высшем образовании на постсоветском пространстве, то здесь ситуация не менее напряженная. Принципы использования компетентностной модели, в частности в высшем медицинском образовании в странах СНГ, пока не разработаны как с точки зрения методики ее применения, так и с точки зрения оценки качества [18]. В настоящее время в русскоязычной педагогической литературе имеется как минимум 12 определений понятия «компетенция». Более того, введено дополнительное понятие «компетентность», которое определяется еще девятью разными определениями [19]. Часто оба понятия путаются, чем еще более осложняют понимание этого вопроса. При наличии столь разных представлений о смысле компетентностного подхода говорить об унификации и тем более стандартизации принципов оценки качества

подготовки практически невозможно. Российские эксперты в связи с этим отмечают, что если академическое сообщество действительно ставит цель использовать компетентностный подход для оценки подготовки врачей, то как можно скорее надо решить две задачи: во-первых, определить компоненты компетенции без двусмысленных трактовок и прийти к согласию по поводу их содержания; во-вторых, изучить взаимосвязь между компетенциями, формируемыми у студента-медика, и реальной практической деятельностью врача.

Как предлагают оценивать компетенции

Методология оценки качества образования в педагогике высшей школы представляет наибольший интерес, независимо от используемых моделей и подходов. Стратегически известно два базовых принципа оценки качества высшего образования. Первый возник несколько столетий назад в английской классической университетской среде. Его суть состоит в том, что работа по контролю качества и ответственность за него лежит на самих университетах, которые сами создают критерии оценки и формируют необходимый инструментарий для их реализации. Второй подход характерен для континентальной Европы (Франция, Германия, Италия) и предполагает преимущественную ответственность государства и соответствующих надзорных и контрольных органов за качество университетского образования. Система контроля качества образования в США в какой-то степени представляет собой гибрид обеих европейских систем, но преимущественно нацелена на поиск и анализ бизнес-информации по этой теме. Например, имеет преимущественное значение снабжение правительственных органов или руководство специализированных фондов объективными сведениями о перспективности тех или иных образовательных программ для принятия решений об инвестициях в образовательную среду той или иной административной территории [20]. На постсоветском пространстве традиционно доминирует ответственность государства за качество подготовки специалистов с высшим образованием. Как отмечают Пак Ю.Н., Нугужинов Ж.С. и Пак Д.Ю. (2017), попытки в отдельных странах СНГ в постперестроечный период отдать контрольные функции самим университетам не привели к росту качества образования, а скорее наоборот, способствовали его ухудшению [21].

Ибрагимов Г.И. и Ибрагимова Е.М. (2016) выделяют три подхода к оценке компетенций в университетах СНГ [22]. Первый подход позици-

онирует компетенцию как динамическое единство знаний, умений и навыков, которые необходимо делить на множество субкомпонентов и оценивать последние с помощью сложных математических методов [23, 24]. Согласно второму, считают необходимым помимо знаний, умений и навыков в компетенцию включать еще мотивационную составляющую, которая характеризует отношение специалиста к тому, что он делает. К критериям оценки компетенций, соответственно, добавляются параметры мотивации, например инициативность, оперативность, стремление к власти, аффилиация, консерватизм и др. [25, 26]. Третий подход состоит в том, что в структуру компетенции включается, помимо указанных выше, еще один дополнительный компонент – условия, в которых она проявляется (новизна задачи или ситуации, в которой она развивается, степень самостоятельности в принятии решения, имеющиеся наличные ресурсы для решения задачи) [27].

Невооруженным глазом видно, что все перечисленные подходы характеризуются фактическим отказом от классического понимания компетенций, которое в свое время было предложено авторами компетентностной модели. Очевидно, речь по-прежнему идет об оценке классической триады «знания-умения-навыки», осуществляемой в завуалированной форме, хотя и с определенными усовершенствованиями. К числу последних, несомненно, следует отнести понимание того, что качество подготовки специалиста не может быть оценено одномоментно т.е. на экзамене, даже если этих экзаменов несколько. Оценка должна носить итерационный характер, должна быть растянута во времени. С другой стороны, функции обучения и функции оценки его качества должны быть разделены, оценка качества должна производиться специальными независимыми структурами. И, наконец, шкала оценок полностью теряет смысл, имеет значение градация: экзамен сдан или не сдан, что означает, может данный выпускник быть допущен к самостоятельной деятельности (или к выходу на следующий этап подготовки) или не может.

Отдельные российские авторы понимают, что для оценки компетенций, в отличие от традиционной оценки знаний-умений-навыков, необходимы комплексные специальные оценочные средства, демонстрирующие решение реальных профессиональных задач, основанное на применении информации из разных предметных областей, на самостоятельном конструировании алгоритмов действий,

актуализации умений в новых обстоятельствах, использовании универсальных способов деятельности [26]. Следует отметить, однако, что описание подобных «специальных оценочных средств» в доступной русскоязычной методической литературе пока отсутствует.

В то же время в англоязычной образовательной среде этот вопрос решен уже давно [28]. Оценка компетенций должна удовлетворять 6-ти основным принципам. Во-первых, текущая оценка должна проводиться как можно чаще, в идеале постоянно фактически в режиме on-line, чтобы в любой момент наблюдения можно было увидеть прогресс или регресс обучаемого. Во-вторых, оценка должна быть построена на общепринятых критериях, нельзя считать компетенцию достигнутой только потому, что студент показывает лучшие результаты, чем другие студенты. В-третьих, оцениваться должна реальная работа, для которой готовится обучаемый, оценка на основе симуляционных методик возможна только на ранних этапах в ограниченном количестве. В-четвертых, оценочные инструменты не должны быть излишне затратными, должны вызывать доверие к результатам. В-пятых, преимущественно должен использоваться качественный подход, а не количественный: мнения экспертов важнее, чем проценты, баллы и рейтинги. Наконец, в-шестых, мнение самого оцениваемого должно быть включено в общую оценку компетенций. В итоге оказывается, что процесс оценки компетенций длителен и затратен, требует участия большого количества экспертов и может растянуться на несколько месяцев. Но надо понимать, что сложность оценочных инструментов должна соответствовать сложности оцениваемого явления. В противном случае оценивание компетенций будет редуцироваться до традиционной модели оценки знаний, умений и навыков.

Понимая всю сложность процесса оценки компетенций, западные специалисты предлагают новый вариант решения этой проблемы - систему Entrustable Professional Activity, поскольку, как считают некоторые, довести оценивание компетенций до уровня обычной простой и доступной технологии практически невозможно. Новый концепт соединяет благородные, но далекие от жизни идеи компетентностного подхода с реальной медицинской практикой. Суть нововведения состоит в том, чтобы оценивать не уровень различных компетенций, а искать ответ на вопрос, можно или нельзя данному претенденту доверить самостоятельную работу с пациентом [29].

Как может выглядеть компетентностный подход к оценке учебных достижений в рамках одной клинической дисциплины

Принимая во внимание сложности оценки компетенций как у выпускников учреждений высшего медицинского образования, так и на постдипломном этапе, следует признать, что реализация компетентностного подхода в преподавании отдельно взятых клинических дисциплин представляет собой еще большую проблему. Во-первых, в формировании одной компетенции принимают участие, как правило, несколько клинических кафедр, во-вторых, риск редуцировать компетенции до знаний-умений-навыков на этом этапе максимально высок.

С учетом того, что компетентностный подход требует оценки способности диагностировать и лечить заболевание у пациента и предполагает отказ от фрагментирования этой способности на знания, умения и навыки, в идеале экзамен должен выглядеть как врачебный прием, который оценивает комиссия из нескольких экспертов. Длительность процесса оценки компетенций должна быть достаточной для получения убедительного заключения о практических способностях испытуемого.

В ходе подобного тестового врачебного приема могут быть оценены:

- способность построить коммуникацию с обследуемым и медицинским персоналом клинической базы,
- полнота и качество сбора жалоб и анамнестических данных,
- практическое владение общими и специальными методами обследования пациента (практические навыки),
- правильность постановки предварительного диагноза,
- выбор инструментальных и лабораторных методов для его подтверждения,
- интерпретация их результатов,
- соответствие назначенного лечения установленным протоколам.

При этом для экзаменационного процесса может быть задействован как реальный пациент, так и стандартизированный. Несмотря на то, что технически эта задача легко реализуема с применением средств аудиовидеозаписи, причем процесс сдачи экзамена и его оценки может быть разведен и пространственно, и во времени, с практической точки зрения эта методика представляется затратной по сравнению с традиционной. Но при этом она отвечает главному принципу теории управления ка-

чеством, а именно, что сложность инструментария для оценки какого-либо процесса не должна уступать сложности самого этого процесса.

С точки зрения снижения затрат и при обязательном сохранении формата компетентностного подхода, на наш взгляд, следует обратить внимание на учебную историю болезни как на базовый уровень, на котором можно проектировать оценочный инструментарий для анализа компетенций, сформированных в процессе преподавания отдельных клинических дисциплин. С одной стороны, процесс создания истории болезни является частным случаем деловой игры, с другой – дает возможность оценить не только знания-умения-навыки, но и фактически весь пакет анализируемых компетенций, если под историей болезни понимать не ее текст, а процесс ее создания. Работая в таком формате, при необходимости есть возможность углубленно проверить отдельные этапы работы студента: умение построить доверительные отношения с пациентом, собрать жалобы и сведения из анамнеза, произвести необходимый объем объективных исследований, поставить предварительный и клинический диагноз, назначить оптимальное лечение. Как правило, методы обследования пациента представляют собой практические навыки, предусмотренные учебной программой. В ходе защиты истории болезни студенту могут быть заданы дополнительные вопросы, позволяющие проверить знания по разным темам: от объяснения генеза того или иного симптома до выбора оптимального лекарственного средства для медикаментозной терапии или выбора оптимального способа хирургического вмешательства. Следует отметить, что оценка уровня освоения клинической дисциплины через наблюдение за подготовкой истории болезни в значительно большей степени соответствует принципам компетентностного подхода, нежели сдача практических навыков в отрыве от конкретной клинической ситуации в сочетании с оценкой способностей студента к механическому заучиванию тестового материала.

Заключение

В условиях все большего проникновения рыночных отношений в образовательное пространство внедрение эффективных технологий, обеспечивающих высокое качество образования, является существенным конкурентным преимуществом любого университета. Одной из наиболее значимых идей в этой области является переход от традиционной оценки качества подготовки спе-

циалиста, основанной на известной триаде «знания-умения-навыки», к оценке компетенций. Несмотря на уже почти полвека дискуссий по этому вопросу, реальное внедрение компетентностного подхода оказалось сложной задачей даже для западных университетов, которые развивались исключительно в рыночных условиях. До сих пор проблема оценки компетенций не имеет убедительного решения и продолжает оставаться актуальной. На постсоветском пространстве попытки внедрения компетентностного подхода характеризуются его редукцией, превращающей декларируемый анализ компетенций в обычную оценку все тех же знаний, умений и навыков. В то время как компетентностный подход требует специального оценочного инструментария, который, в конечном итоге, оказывается значительно более затратным, чем традиционный. В связи с этим, в западной системе медицинского образования предлагаются новые формы оценки качества подготовки специалиста, характеризующиеся большей простотой измерений. Учитывая изложенные тренды оценки качества в мировой системе высшего медицинского образования, следует отметить, что для анализа компетенций по отдельным клиническим дисциплинам наиболее приемлемой формой остается анализ и оценка истории болезни. При этом под историей болезни надо понимать не столько ее итоговый текст, сколько процесс ее создания, который включает в себя разные оцениваемые этапы работы с пациентом: от установления коммуникативного контакта до контроля эффективности назначенного лечения и экспертизы трудоспособности.

Литература

1. Ten Cate, O. Competency-based education, entrustable professional activities, and the power of language / O. Ten Cate // J. Grad. Med. Educ. – 2013 Mar. – Vol. 5, N 1. – P. 6–7.
2. Ten Cate, O. Competency-Based Education and Entrustable Professional Activities (EPAs) in the context of medical skill training [Electronic resource] / O. Ten Cate. – Mode of access: https://www.uems.eu/_data/assets/pdf_file/0009/56880/ten-Cate-16-feb-2018-UEMS-NASCE-EPAs-and-Skills-training.pdf. – Date of access: 03.12.2018.
3. Tyler, R. W. Basic principles of curriculum and instructions / R. W. Tyler. – Chicago : Chicago University Press, 2013. – 144 p.
4. Bloom, B. S. Taxonomy of educational objectives: the classification of educational goals / B. S. Bloom. – London : Longmans : Green and Co Ltd, 1956. – 207 p.
5. Competency-based curriculum development in medical education / W. C. McGaghie [et al.]. – Geneva : World Health Organization, 1978. – 90 p.

6. General competencies and accreditation in graduate medical education / P. Batalden [et al.] // Health Aff. (Millwood). – 2002 Sep-Oct. – Vol. 21, N 5. – P. 103–111.
7. Competency-based medical education: An overview and application in pharmacology / N. Shah [et al.] // Indian J. Pharmacol. – 2016 Oct. – Vol. 48, suppl. 1. – P. S5–S9.
8. Swing, S. R. The ACGME outcome project: retrospective and prospective / S. R. Swing // Med. Teach. – 2007 Sep. – Vol. 29, N 7. – P. 648–654.
9. Outcomes for graduates 2018 [Electronic resource] / General Medical Council. – Mode of access: https://www.gmc-uk.org/-/media/documents/dc11326-outcomes-for-graduates-2018_pdf-75040796.pdf. – Date of access: 28.11.2018.
10. Toward a definition of competency-based education in medicine: a systematic review of published definitions / J. R. Frank [et al.] // Med. Teach. – 2010. – Vol. 32, N 8. – P. 631–637.
11. Huddle, T. S. Taking apart the art: the risk of anatomizing clinical competence / T. S. Huddle, G. R. Heudebert // Acad. Med. – 2007 Jun. – Vol. 82, N 6. – P. 536–541.
12. Lurie, S. J. Commentary: Pitfalls in assessment of competency-based educational objectives / S. J. Lurie, C. J. Mooney, J. M. Lyness // Acad. Med. – 2011 Apr. – Vol. 86, N 4. – P. 412–414.
13. Perspective: Competencies, outcomes, and controversy – linking professional activities to competencies to improve resident education and practice / M. D. Jones [et al.] // Acad. Med. – 2011 Feb. – Vol. 86, N 2. – P. 161–165.
14. Competency-based medical education: implications for undergraduate programs / P. Harris [et al.] // Med. Teach. – 2010. – Vol. 32, N 8. – P. 646–650.
15. Lurie, S. J. History and practice of competency-based assessment / S. J. Lurie // Med. Educ. – 2012 Jan. – Vol. 46, N 1. – P. 49–57.
16. Advancing Competency-Based Medical Education: A Charter for Clinician-Educators / C. Carraccio [et al.] // Acad. Med. – 2016 May. – Vol. 91, N 5. – P. 645–649.
17. Whitcomb, M. E. Transforming Medical Education: Is Competency-Based Medical Education the Right Approach? / M. E. Whitcomb // Acad. Med. – 2016 May. – Vol. 91, N 5. – P. 618–620.
18. Митрохина, Т. Н. Компетентностный подход в российской высшей школе: инновация или регрессия? / Т. Н. Митрохина // Вестн. Волгогр. гос. ун-та. Сер. 4, История. – 2013. – № 1. – С. 158–161.
19. Митрофанова, К. А. Понятия компетенции и компетентности в высшем медицинском образовании России / К. А. Митрофанова // Науч. диалог. – 2016. – № 1. – С. 285–297.
20. Звонников, В. И. Контроль качества обучения при аттестации: компетентностный подход : учеб. пособие / В. И. Звонников, М. Б. Челышкова. – М. : Логос : Унив. книга, 2009. – 271 с.
21. Пак, Ю. Н. Проблемы модернизации высшей школы в формате компетентностного подхода / Ю. Н. Пак, Ж. С. Нугужин, Д. Ю. Пак // Высш. образование сегодня. – 2017. – № 10. – С. 48–52.
22. Ибрагимов, Г. И. Оценивание компетенций: проблемы и решения / Г. И. Ибрагимов, Е. М. Ибрагимова // Высш. образование в России. – 2016. – № 1. – С. 43–52.
23. Подход к формированию компонентной структуры компетенций / Е. Л. Кон [и др.] // Высш. образование в России. – 2013. – № 7. – С. 37–41.
24. Кон, Е. Л. Разработка подходов к формализованному описанию контролепригодной компонентной структуры дисциплинарной компетенции / Е. Л. Кон, В. И. Фрейман, А. А. Южаков // Образование и наука. – 2015. – № 4. – С. 52–68.
25. Буденкова, Е. А. Управление результатами обучения в условиях реализации компетентностного подхода в системе ВПО / Е. А. Буденкова // Образоват. технологии. – 2014. – № 3. – С. 47–58.
26. Современные подходы к оцениванию квалификаций / В. И. Блинов [и др.] // Высш. образование в России. – 2013. – № 5. – С. 100–106.
27. Чучалин, А. И. Планирование оценки результатов обучения при проектировании образовательных программ / А. И. Чучалин, А. В. Епихин, Е. А. Муратова // Высш. образование в России. – 2013. – № 1. – С. 13–20.
28. The role of assessment in competency-based medical education / E. S. Holmboe [et al.] // Med. Teach. – 2010. – Vol. 32, N 8. – P. 676–682.
29. Transforming primary care training – patient-centered medical home entrustable professional activities for internal medicine residents / A. Chang [et al.] // J. Gen. Intern. Med. – 2013 Jun. – Vol. 28, N 6. – P. 801–809.

Поступила 12.11.2018 г.
Принята в печать 29.11.2018 г.

References

1. Ten Cate O. Competency-based education, entrustable professional activities, and the power of language. J Grad Med Educ. 2013 Mar;5(1):6-7. doi: 10.4300/JGME-D-12-00381.1
2. Ten Cate O. Competency-Based Education and Entrustable Professional Activities (EPAs) in the context of medical skill training. Available from: https://www.uems.eu/_data/assets/pdf_file/0009/56880/ten-Cate-16-feb-2018-UEMS-NASCE-EPAs-and-Skills-training.pdf. [Accessed 3 Dec 2018].
3. Tyler RW. Basic principles of curriculum and instructions. Chicago: Chicago University Press; 2013. 144 p.
4. Bloom BS. Taxonomy of educational objectives: the classification of educational goals. London: Longmans: Green and Co Ltd; 1956. 207 p.
5. McGaghie WC, Sajid AW, Miller GE, Telder TV, Lipson L, et al. Competency-based curriculum development in medical education. Geneva: World Health Organization; 1978. 90 p.
6. Batalden P, Leach D, Swing S, Dreyfus H, Dreyfus S. General competencies and accreditation in graduate medical education. Health Aff (Millwood). 2002 Sep-Oct;21(5):103-11.
7. Shah N, Desai C, Jorwekar G, Badyal D, Singh T. Competency-based medical education: An overview and application in pharmacology. Indian J Pharmacol. 2016 Oct;48(Suppl 1):S5-S9. doi: 10.4103/0253-7613.193312
8. Swing SR. The ACGME outcome project: retrospective and prospective. Med Teach. 2007 Sep;29(7):648-54. doi: 10.1080/01421590701392903
9. General Medical Council. Outcomes for graduates 2018. Available from: <https://www.gmc-uk.org/-/media/documents/>

- dc11326-outcomes-for-graduates-2018_pdf-75040796.pdf. [Accessed 28 Nov 2018].
10. Frank JR, Mungroo R, Ahmad Y, Wang M, De Rossi S, Horsley T. Toward a definition of competency-based education in medicine: a systematic review of published definitions. *Med Teach*. 2010;32(8):631-7. doi: 10.3109/0142159X.2010.500898
 11. Huddle TS, Heudebert GR. Taking apart the art: the risk of anatomizing clinical competence. *Acad Med*. 2007 Jun;82(6):536-41. doi: 10.1097/ACM.0b013e3180555935
 12. Lurie SJ, Mooney CJ, Lyness JM. Commentary: pitfalls in assessment of competency-based educational objectives. *Acad Med*. 2011 Apr;86(4):412-4. doi: 10.1097/ACM.0b013e31820cdeb28
 13. Jones MD, Rosenberg AA, Gilhooly JT, Carraccio CL. Perspective: Competencies, outcomes, and controversy – linking professional activities to competencies to improve resident education and practice. *Acad Med*. 2011 Feb;86(2):161-5. doi: 10.1097/ACM.0b013e31820442e9
 14. Harris P, Snell L, Talbot M, Harden RM. Competency-based medical education: implications for undergraduate programs. *Med Teach*. 2010;32(8):646-50. doi: 10.3109/0142159X.2010.500703.
 15. Lurie SJ. History and practice of competency-based assessment. *Med Educ*. 2012 Jan;46(1):49-57. doi: 10.1111/j.1365-2923.2011.04142.x
 16. Carraccio C, Englander R, Van Melle E, Ten Cate O, Lockyer J, Chan MK, et al. Advancing Competency-Based Medical Education: A Charter for Clinician-Educators. *Acad Med*. 2016 May;91(5):645-9. doi: 10.1097/ACM.0000000000001048
 17. Whitcomb ME. Transforming Medical Education: Is Competency-Based Medical Education the Right Approach? *Acad Med*. 2016 May;91(5):618-20. doi: 10.1097/ACM.0000000000001049
 18. Mitrokhina TN. Competence approach in Russian higher education: innovation or regression? *Vestn Volgogr Gos Un-ta Ser 4 Istoriia*. 2013;(1):158-61. (In Russ.)
 19. Mitrofanova KA. Concepts of competence and competence in higher medical education in Russia. *Nauch Dialog*. 2016;(1):285-97. (In Russ.)
 20. Zvonnikov VI, Chelyshkova MB. Quality control of training at certification: competence approach: *ucheb posobie*. Moscow, RF: Logos: Univ kniga; 2009. 271 p. (In Russ.)
 21. Pak YuN, Nuguzhinov ZhS, Pak DYU. Problems of modernization of higher education in the format of competence approach. *Vyssh Obrazovanie Segodnia*. 2017;(10):48-52. (In Russ.)
 22. Ibragimov GI, Ibragimova EM. Assessment of competencies: problems and solutions. *Vyssh Obrazovanie Rossii*. 2016;(1):43-52. (In Russ.)
 23. Kon EL, Freyman VI, Yuzhakov AA, Kon EM. Approach to the formation of the component structure of competences. *Vyssh Obrazovanie Rossii*. 2013;(7):37-41. (In Russ.)
 24. Kon EL, Freyman VI, Yuzhakov AA. Development of approaches to the formalized description of the controllable component structure of disciplinary competence. *Obrazovanie Nauka*. 2015;(4):52-68. (In Russ.)
 25. Budenkova EA. Management of learning outcomes in terms of implementation of the competence approach in the system of HPE. *Obrazovat Tekhnologii*. 2014;(3):47-58. (In Russ.)
 26. Blinov VI, Batrova OF, Esenina EYu, Faktorovich AA. Modern approaches to the assessment of qualifications. *Vyssh Obrazovanie Rossii*. 2013;(5):100-6. (In Russ.)
 27. Chuchalin AI, Epikhin AV, Muratova EA. Planning the evaluation of learning outcomes in the design of educational programs. *Vyssh Obrazovanie Rossii*. 2013;(1):13-20. (In Russ.)
 28. Holmboe ES, Sherbino J, Long DM, Swing SR, Frank JR. The role of assessment in competency-based medical education. *Med Teach*. 2010;32(8):676-82. doi: 10.3109/0142159X.2010.500704
 29. Chang A, Bowen JL, Buranosky RA, Frankel RM, Ghosh N, Rosenblum MJ, et al. Transforming primary care training – patient-centered medical home entrustable professional activities for internal medicine residents. *J Gen Intern Med*. 2013 Jun;28(6):801-9. doi: 10.1007/s11606-012-2193-3

Submitted 12.11.2018

Accepted 29.11.2018

Сведения об авторах:

Королькова Н.К. – к.м.н., доцент, и.о. заведующего кафедрой офтальмологии, Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет,

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6172-6767>;

Бизунков А.Б. – ассистент кафедры оториноларингологии, Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет.

Information about authors:

Karalkova N.K. – Candidate of Medical Sciences, associate professor, acting head of the Chair of Ophthalmology, Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University,

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6172-6767>;

Bizunkov A.B. – lecturer of the Chair of Otorhinolaryngology, Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University.

Адрес для корреспонденции: Республика Беларусь, 210009, г. Витебск, пр. Фрунзе, 27, Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет, кафедра оториноларингологии. E-mail: dr.aleksandr@list.ru – Бизунков Александр Борисович.

Correspondence address: Republic of Belarus, 210009, Vitebsk, 27 Frunze ave., Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University, Chair of Otorhinolaryngology. E-mail: dr.aleksandr@list.ru – Alexander B. Bizunkov.

ВСЕРОССИЙСКАЯ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ «АСПИРАНТСКИЕ ЧТЕНИЯ»

24 октября в рамках мероприятий по подготовке к 100-летию Самарского государственного медицинского университета прошли очередные Аспирантские чтения – 2018 «Исследования молодых ученых в решении актуальных проблем медицинской науки и практики». В работе конференции приняли участия аспиранты, соискатели, интересующиеся наукой клинические ординаторы и интерны России и ближнего зарубежья. В рамках конференции состоялось 10 секционных заседаний, было заслушано более 200 докладов.

Свои научные исследования в г. Самаре представили аспиранты ВГМУ Земко Виктория Юрьевна (кафедра анестезиологии и реаниматологии с курсом ФПК и ПК) и Прищепенко Вячеслав Александрович (кафедра пропедевтики внутренних болезней). Работы были отмечены дипломами и памятными подарками.

После конференции состоялась экскурсия для гостей СамГМУ в технопарк университета. В задачи подразделения входит разработка, создание и мелкосерийное производство инновационных медицинских изделий. Гостям конференции было продемонстрировано оборудование для производства и образцы изделий.

По окончании конференции состоялось пленарное заседание, на котором с поздравлениями выступил ректор СамГМУ Г.П. Котельников, а также представил доклад заместитель председателя Межправительственного комитета по биоэтике ЮНЕСКО, академик А.Г. Чучалин. В рамках конференции мы смогли представить свои результаты, познакомиться с исследованиями молодых ученых российских центров, а также укрепить сотрудничество между нашими университетами.



МЕЖДУНАРОДНАЯ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ «МЕДИЦИНСКОЕ ОБРАЗОВАНИЕ XXI ВЕКА: ПРАКТИКООРИЕНТИРОВАННОСТЬ И ПОВЫШЕНИЕ КАЧЕСТВА ПОДГОТОВКИ СПЕЦИАЛИСТОВ»

1 ноября 2018 г. в УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет» проводилась Республиканская научно-практическая конференция с международным участием по теме «Медицинское образование XXI века: практикоориентированность и повышение качества подготовки специалистов».

Конференция была призвана обобщить проблемы и перспективы развития непрерывного медицинского и фармацевтического образования, в т.ч. повышение качества образования в медицинских вузах и колледжах, его практикоориентированность.

Работа конференции проводилась по 6 основным направлениям:

1. Создание практикоориентированной образовательной среды.
2. Практикоориентированное обучение как основа формирования профессиональных компетенций обучающихся.
3. Разработка практикоориентированных учебных пособий и дидактических материалов.
4. Формирование социально-личностных компетенций обучающихся в процессе практикоориентированного обучения.



5. Практикоориентированные технологии в обучении иностранных студентов.
6. Практикоориентированные технологии в системе дополнительного образования взрослых.

Работали 2 круглых стола:

1. «Практикоориентированные технологии в преподавании социально-гуманитарных дисциплин в медицинском вузе».
2. «Качество образовательного процесса в системе дополнительного образования взрослых: роль преподавателя и слушателя».

В рамках конференции также прошли 2 мастер-класса:

1. «Использование современных информационных технологий для формирования профессиональных компетенций в процессе преподавания медико-биологических дисциплин».
2. «Основы кинезиологии и иглорефлексотерапии у женщин с пролапсом гениталий».

На заседаниях секций выступили 75 докладчиков. А всего в работе конференции приняли участие более 200 преподавателей и студентов из различных университетов, колледжей, академий Республики Беларусь, России и Украины.

РАСШИРЯЕМ СВЯЗИ С БелМАПО

О ПРОВЕДЕНИИ ПРОФЕССОРОМ ЛУЦКОЙ И.К. ОТКРЫТОЙ ЛЕКЦИИ



2 ноября 2018 года в УО «ВГМУ» для студентов стоматологического факультета, преподавателей и врачей-стоматологов УЗ «Витебский областной стоматологический клинический центр» состоялись организованные администрацией университета и деканом стоматологического ф-та Карпуком Иваном Юрьевичем 3 актовые лекции заведующей кафедрой терапевтической стоматологии Белорусской медицинской академии последиplomного образования» (БелМАПО), профессора Луцкой Ирины Константиновны на тему «СПИД. Проявления в полости рта»,

«Травматические повреждения слизистой оболочки полости рта», «Альтернативные методы лечения кариеса зуба 1-2 класса по Блеку». В процессе чтения лекций происходило активное общение со студентами и врачами практического здравоохранения, велось интерактивное обсуждение конкретных клинических случаев из практики профессора Луцкой И.К.

Преподаватели и студенты стоматологического факультета ознакомились и детально разобрались в диагностике, лечении и методах профилактики заболеваний слизистой оболочки полости рта. Достигнута также предварительная договоренность о проведении совместных вебинаров между БелМАПО и УО «ВГМУ» по актуальным проблемам стоматологии.

МАСТЕР-КЛАСС ПО ЧЕЛЮСТНО-ЛИЦЕВОЙ ХИРУРГИИ



5-6 ноября 2018 года на базе кафедры челюстно-лицевой хирургии и хирургической стоматологии с курсом ФПК и ПК прошел мастер-класс по хирургическому лечению детей с врожденной патологией лица с участием доцента кафедры челюстно-лицевой хирургии Белорусской медицинской академии последипломного образования, к.м.н. Д.А. Гричанюка. В течение двух дней сотрудники кафедры вместе с Дмитрием Александровичем провели ряд высокотехно-

логических операций детям с врожденными пороками развития челюстно-лицевой области.

Врожденные аномалии челюстно-лицевой области являются не только медицинской, но и социальной проблемой, требуют комплекса мероприятий, направленных на реабилитацию пациентов с данной патологией. В ходе совместной работы в операционной УЗ «Витебская областная клиническая больница» челюстно-лицевые хирурги ВГМУ и БелМАПО смогли приобрести новый опыт оказания медицинской помощи пациентам с тяжелыми врожденными деформациями лица.

СЪЕЗД МОЛОДЕЖНЫХ НАУЧНЫХ ОБЩЕСТВ МЕДИЦИНСКИХ И ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИХ ВУЗОВ РОССИИ И СТРАН СНГ

Председатель Студенческого научного общества ВГМУ доцент И.С. Соболевская и председатель Совета молодых ученых ВГМУ, доцент А.А. Кабанова приняли участие в XV съезде молодежных научных обществ медицинских и фармацевтических ВУЗов России и стран СНГ, который прошел на базе Смоленского государственного медицинского университета 8-10 ноября 2018 года.

Молодежные научные общества сегодня являются платформой для самореализации, развития коммуникаций в научной среде, а также способствуют популяризации науки. В рамках съезда обсуждались вопросы развития межвузовского взаимодействия студентов и молодых ученых, мотивации студентов к занятию НИР, усиления взаимодействия молодежных кадров в рамках кластерного объединения медицинских ВУЗов, разработки путей повышения качества научной деятельности и многое другое.

Представители ВГМУ выступили с докладом «Студенческое научное общество и Совет молодых ученых: единство в развитии научного потенциала молодежи», осветив основные направления работы молодежных научных обществ университета. Достижения студентов и молодых ученых ВГМУ вызвали большой интерес у участников съезда, что подтвердило высокий уровень организации молодежного научного движения в нашем университете.

ИТОГИ XVIII МЕЖДУНАРОДНОЙ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКОЙ КОНФЕРЕНЦИИ СТУДЕНТОВ И МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ «СТУДЕНЧЕСКАЯ МЕДИЦИНСКАЯ НАУКА XXI ВЕКА»

Осенью 2018 г. в нашем университете были подведены итоги научно-практической деятельности студентов и молодых ученых проведением XVIII Международной научно-практической конференции «Студенческая медицинская наука XXI века». 14-15 ноября состоялось данное научное мероприятие, в котором приняли участие с докладами более 200 талантливых студентов, магистрантов и аспирантов из Витебска, а также других городов Республики Беларусь, Российской Федерации и Украины. Организаторами выступили Студенческое научное общество и Совет молодых ученых ВГМУ.



Конференция работала по различным направлениям клинической и фундаментальной медицины, а также фармации. В этом году на различных базах университета состоялись заседания 14 секций по актуальным проблемам современной медицинской науки.

На пленарном заседании 15 ноября были заслушаны 3 лучших доклада: Сысоевой Юлии Геннадиевны «Способ дренирования слезоотводящих путей при эндоскопической эндонозальной дакриоцистиностомии» (Рязанский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова), Жук Анастасии Александровны «Метод построения искусственной нейронной сети для дооперационной диагностики прогрессирования рака тела матки» (Белорусский государственный медицинский университет), Есениной Анны Сергеевны «Изменение функциональной активности транспортного белка гликопротеина-р под влиянием прогестерона» (Рязанский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова).

По итогам конференции проректор по научно-исследовательской работе университета Сергей Альбертович Сушков вручил дипломы и памятные подарки авторам работ первой, второй и третьей категории. Всего по результатам конференции дипломами были награждены 45 докладчиков, показавших наивысшие результаты на своих заседаниях секций.

Хотелось бы отметить, что на состоявшейся Международной научно-практической конференции студентами и молодыми учеными были представлены на традиционно высоком уровне результаты научно-исследовательской работы, составляющие огромный потенциал будущих специалистов.

ВИЗИТ ДИРЕКТОРА ПО УНИВЕРСИТЕТСКОМУ СОТРУДНИЧЕСТВУ КОМПАНИИ «КАПЛАН МЕДИКАЛ» ДОКТОРА ИНДЕРДИПА СИНГХА ПАХАЛА В ВГМУ



16 ноября 2018 г. состоялся визит в ВГМУ директора по университетскому сотрудничеству компании «Каплан Медикал» доктора Индердипа Сингха Пахала.

Каплан Медикал является мировым лидером в предоставлении услуг по подготовке к сдаче экзамена на получение лицензии на медицинскую деятельность в США (USMLE), которая распространяется также и на другие страны мира. Компания занимается этим направлением уже 40 лет. Процент успешной сдачи экзамена

USMLE после прохождения подготовки в «Каплан Медикал» составляет 72-95%.

В ходе встречи доктора Индердипа Сингха Пахала с ректором университета обсуждались возможности сотрудничества и участия в программе студентов факультета подготовки иностранных граждан ВГМУ.

По итогам визита был проведен семинар с иностранными студентами, в ходе которого доктор Индердип Сингх Пахал подробно рассказал об этапах подготовки к экзамену, специфике задаваемых теоретических вопросов и особенностях сдачи практических навыков.

Студенты имели возможность задать все интересующие их вопросы представителю компании «Каплан Медикал», на которые получили исчерпывающие ответы.

ПОЧЁТНАЯ ГРАМОТА НАЦИОНАЛЬНОГО СОБРАНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ ВРУЧЕНА СТАНОВЕНКО В.В.



21 ноября на Совете университета ректор, профессор Анатолий Тадеушевич Щастный вручил Почётную грамоту Национального собрания Республики Беларусь заведующему кафедрой оперативной хирургии и топографической анатомии, доценту Вячеславу Валентиновичу Становенко. Эта награда присуждена Вячеславу Валентиновичу за большой вклад в реализацию социальной политики Республики Беларусь.

Поздравляем Вас от души, Вячеслав Валентинович!

УСПЕХИ В РЕАЛИЗАЦИИ ДОГОВОРА О СОТРУДНИЧЕСТВЕ МЕЖДУ ВГМУ И ПЕНЗЕНСКИМ ГОСУДАРСТВЕННЫМ УНИВЕРСИТЕТОМ

В апреле 2015 г. был заключен договор о сотрудничестве между Витебским медицинским и Пензенским государственными университетами. В рамках реализации договора факультет повышения квалификации по педагогике и психологии УО ВГМУ осуществил повышение квалификации для преподавателей морфологических кафедр ПГУ на онлайн-дистанционном цикле, анатомы университетов выполняют совместные научные исследования по усовершенствованию технологий хранения и изготовления анатомических препаратов, пишут совместные учебные пособия. В издательстве ПГУ вышло уже 2 таких пособия: Анатомический глоссарий (опорно-двигательный аппарат, спланхнология): учебное пособие (О.К. Зенин, О.А. Калмина, А.К. Усович, В.С. Пикалюк. – 2016 г.) и Анатомические кроссворды (спланхнология): практикум (Зенин О.К., Калмин О.В., Усович А.К., Кудымов П.В.). – 2018.

На 4-м международном профессиональном конкурсе преподавателей вузов «University teacher – 2018» книга «Анатомические кроссворды» заняла 1 место по направлению «Медицинские науки».

О ПРОВЕДЕНИИ ВЕБИНАРА «РАЗРАБОТКА СТЕРИЛЬНЫХ ИНЪЕКЦИОННЫХ ДЖЕНЕРИКОВ»

С 24 по 27 сентября 2018 г. в конференц-зале морфологического корпуса университета состоялся очередной, уже ставший традиционным, образовательный модуль (вебинар), организованный в рамках трехстороннего договора между ГБОУ ВПО «Санкт-Петербургская государственная химико-фармацевтическая академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации, учреждением образования «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет» и компанией Pfizer и образовательного проекта Санкт-Петербургской государственной химико-фармацевтической академии «Больше, чем образование».

Тема вебинара – «Юридические аспекты фармотрасли».

Для технического сопровождения были задействованы оборудование и специалисты отдела дистанционного обучения, отдела технических средств обучения и кафедры информационных технологий УО «ВГМУ». На вебинаре присутствовали студенты фармацевтического факультета 2-5 курсов, преподаватели кафедр организации и экономики фармации с курсом ФПК и ПК, промышленной технологии лекарственных средств с курсом ФПК и ПК, фармацевтической технологии с курсом трансфера технологий, стандартизации лекарственных средств с курсом ФПК и ПК, фармацевтической химии с курсом ФПК и ПК, органической химии, токсикологической и аналитической химии.

В ходе вебинара специалистами компании Pfizer рассматривались вопросы: как создать лекарственное средство; биофармацевтическая промышленность и биофармацевтическая компания; роль юристов в промышленности; интеллектуальная собственность и фармацевтический патент; законы фармацевтического и медицинского производства; правовые аспекты сделок по развитию бизнеса.

*Зам. декана фармацевтического факультета
Г.В. Адаменко*

ПРАВИЛА ДЛЯ АВТОРОВ

Журнал «Вестник ВГМУ» публикует статьи на русском и английском языках по следующим отраслям науки:

- медицинским;
- биологическим (медико-биологические аспекты);
- фармацевтическим;
- психологии и педагогике.

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.

Статья должна быть тщательно отредактирована и выверена. Рукопись должна быть визирована всеми авторами. Это означает, что за правильность приведенных данных ответственность несут авторы. В исключительных случаях, для оценки достоверности результатов, редакция может запросить копии документов, подтверждающих представляемые материалы.

Объем полноразмерной оригинальной статьи должен составлять не менее 14 000 печатных знаков, включая пробелы между словами, знаки препинания, цифры и другие.

При подготовке текста статьи на компьютере необходимо использовать программу Microsoft Word. Размеры полей: сверху – 2 см; снизу – 2 см; слева – 2 см; справа – 2 см. Рукопись печатается через двойной интервал с выделенными жирным заголовками и подзаголовками. Все страницы, начиная с титульной, должны быть последовательно пронумерованы.

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 резюме). 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.

Структура рукописи

Рукопись статьи должна включать следующие части:

1. Титульный раздел
2. Структурированное резюме и ключевые слова на русском и английском языках
3. Введение
4. Материал и методы
5. Результаты
6. Обсуждение
7. Заключение
8. Литература
9. Рисунки и таблицы

1. Титульный раздел должен содержать:

Название статьи – должно быть максимально кратким, информативным и точно определять содержание статьи.

Фамилию и инициалы автора (авторов) – при написании авторов статьи фамилию следует указывать до инициалов имени и отчества;

Официальное название учреждений, в которых выполнялась работа.

Сведения об авторах – указываются полностью фамилии, имена, отчества авторов, ученые степени и звания, должности, место работы (название учреждения, кафедры, отдела), ORCID (если есть). Все лица, обозначенные как авторы, должны соответствовать критериям этого понятия (см. рекомендации ICJME).

Адрес для корреспонденции – приводятся рабочий почтовый адрес места работы или домашний адрес, телефоны, электронный адрес того автора, с кем следует вести редакционную переписку. Адрес для корреспонденции публикуется вместе со статьей.

Благодарности – авторы могут выразить благодарности людям или организациям, способствовавшим публикации рукописи в журнале, но не являющимся её авторами (научное руководство или консультация, критический анализ исследования, сбор данных, финансирование, техническое и лингвистическое редактирование, предоставление пациентов для участия в исследовании и их лечение, предоставленные данные, в том числе рисунки и пр.). Хорошим тоном считается выражение благодарности анонимным рецензентам.

Информацию об источнике поддержки в виде грантов, оборудования, лекарственных препаратов: указывается источник финансирования как научной работы, так и процесса публикации статьи (фонд, коммерческая или государственная организация, частное лицо и др.).

Наличие / отсутствие конфликта интересов. Наиболее частая причина возникновения конфликта интересов – финансовые отношения. Возможны и другие причины: личные отношения, научное соперничество.

Количество рисунков и таблиц. Если количество рисунков и таблиц не указано на титульной странице, редакции и рецензентам бывает трудно определить, все ли рисунки и таблицы, которые должны сопровождать рукопись, были в неё включены.

2. Структурированное резюме оригинальной научной статьи должно точно отражать содержание статьи и быть пригодным для опубликования отдельно от нее, содержать ключевые слова, позволяющие индексировать данную статью.

Резюме должно включать разделы «Цель», «Материал и методы», «Результаты», «Заключение», «Ключевые слова» (не менее 6) и «Источники финансирования» и быть представленным на двух языках: русском и английском. Объем резюме должен составлять около 200-250 слов.

Резюме других видов статей (краткие сообщения, обзоры, случаи из практики) не структурируются, объем их должен составлять не менее 100-150 слов.

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 приставные библиографические списки размещаются на сайте журнала и отсылаются редакцией в электронные информационные базы для индексации.

3. В разделе «Введение» статьи описывается состояние изучаемой проблемы и её актуальность. Указывается цель исследования либо гипотеза, проверяемая исследованием или наблюдением 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.

4. 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.

При описании экспериментов, проводившихся на людях, авторы должны указать, соответствовала ли процедура этическим стандартам локального и национального комитета, отвечающего за эксперименты на людях, а также требованиям Хельсинкской Декларации Всемирной медицинской ассоциации. При описании экспериментов на животных авторы должны указать, действовали ли они в соответствии с локальными и национальными требованиями к использованию и обращению с лабораторными животными.

5. Раздел «Результаты» должен подробно освещать содержание исследований и их результаты, которые следует отражать, максимально используя рисунки и таблицы. Важно, чтобы проиллюстрированная информация не дублировала уже приведенную в тексте. При необходимости раздел может делиться на подразделы (с разъяснительными заголовками).

Представленные в статье результаты желательно сопоставить с предыдущими работами в этой области как автора, так и других исследователей. Такое сравнение дополнительно раскроет новизну проведенной работы, придаст ей объективности.

Формулы, уравнения и сноски, встречающиеся в статье, должны быть пронумерованы в соответствии с порядком цитирования в тексте.

6. В разделе «Обсуждение» полученные результаты должны быть обсуждены с точки зрения их научной новизны и сопоставлены с соответствующими известными данными.

7. **Заключение.** Должны быть четко сформулированы выводы и в сжатом виде отразить основные полученные результаты с указанием их новизны, преимуществ и возможностей применения. Выводы необходимо сопоставить с целями исследования.

8. **Литература** 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. Желательно цитировать источники, опубликованные в течение последних 5-7 лет. 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 и сама оформляет References (литературу на английском языке) в формате Vancouver.

9. **Таблицы, иллюстрации и рисунки** должны быть набраны в отдельном файле, через один интервал, иметь название и подстрочные примечания (если необходимо). Убедитесь, что каждая таблица и рисунок процитированы в тексте. 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, 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.

Подписано в печать 29.11.2018 г. Формат 1/8.

Бумага офсетная. Гарнитура «Таймс». Усл.печ. л. 15,11.

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, г. Витебск, Республика Беларусь, 210009.

При перепечатке материалов ссылка на «Вестник ВГМУ» обязательна.
