



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



2020
Том 19
№3
(май-июнь)

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ
ВИТЕБСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ

ВЕСТНИК

Витебского государственного медицинского университета

Том 19

№3 (май-июнь)

2020

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:

Александр 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

V E S T N I K

of Vitebsk State Medical University

(Vestnik Vitebskogo Gosudarstvennogo Meditsinskogo Universiteta)

Vol. 19

No. 3 (May-June)

2020

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:

Shchastniy 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;
Klochkova 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;
Lityakov A.M. – PhD, MD (Medicine), professor, Belarus;
Lysenko I.M. – PhD, MD (Medicine), professor, Belarus;
Lvov A.N. – PhD, MD (Medicine), professor, Russia;
Malanchuk V.A. – PhD, MD (Medicine), professor, Ukraine;
Matlavska I. – professor, Poland;
Mrochek A.G. – PhD, MD (Medicine), professor, Belarus;
Myadelets O.D. – PhD, MD (Medicine), professor, Belarus;
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;
Rubnikovich 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, 2020

СОДЕРЖАНИЕ

Обзор

Макаревич О.О.

Интравитреальные инъекции в лечении ретинобластомы

Пальгуйева А.Ю., Литвяков А.М.

Ревматоидный артрит и атеросклероз: фокус на хроническую инфекцию. Обзор литературы

Гистология, цитология, эмбриология

Пашинская Е.С., Семенов В.М.,

Побяржин В.В., Кубраков К.М.

Методика воспроизведения экспериментальной метастазирующей крысиной глиомы С6 с использованием флюоресцентного красителя

Физиология

Лазуко С.С.

Зависимая от iNOS модуляция тонуса коронарных сосудов при экспериментальном сахарном диабете, развивающемся на фоне предварительной адаптации

Патологическая анатомия

Самсонова И.В., Лесничая О.В., Малашенко С.В.,

Клопова В.А., Голипад В.В., Млявый А.Н.

Патоморфология COVID-19 по данным 15 вскрытий

Акушерство и гинекология

Кононенко И.С.

Полиморфизмы генов трансформирующего ростового фактора $\beta 1$ и матричной металлопротеиназы 9 как молекулярно-генетические предикторы формирования истмико-цервикальной недостаточности у пациенток с недифференцированной дисплазией соединительной ткани

Анестезиология и реаниматология

Маркевич Д.П., Марочков А.В., Ливинская В.А.

Анестезиологическое обеспечение и интенсивная терапия черепно-мозговой травмы и С-реактивный белок как критерий выживаемости и эффективности лечения пациентов

CONTENTS

Review

7 Makarevich O.O.

Intravitreal injections in retinoblastoma treatment

14 Palhuyeva H.Y., Litvyakov A.M.

Rheumatic arthritis and atherosclerosis: focus on persistent infection. Literature review

Histology, cytology, embryology

23 Pashinskaya E.S., Semenov V.M.,

Pabiarzhyn V.V., Kubrakov K.M.

The reproduction technique of experimental metastatic rat glioma C6 with the use of a fluorescent dye

Physiology

30 Lazuko S.S.

iNOS-dependent modulation of the coronary vessels tone in experimental diabetes mellitus developing on the background of preliminary adaptation

Pathologic anatomy

41 Samsonava I.V., Liasnichaya O.V., Malashenka S.V.,

Klopava V.A., Galipad V.V., Mliavy A.M.

Pathomorphology of COVID-19 according to the data of fifteen autopsies

Obstetrics and gynecology

50 Kononenko I.S.

Genes polymorphisms of transforming growth factor $\beta 1$ and matrix metalloproteinase 9 as molecular and genetic predictors of isthmio-cervical insufficiency development in female patients with undifferentiated connective tissue dysplasia

Anesthesiology and resuscitation

59 Markevich D.P., Marochkov A.V., Livinskaya V.A.

Anesthesiologic management and intensive care of traumatic brain injury and C-reactive protein as a criterion of survival and treatment efficacy of patients

Инфекционные болезни

Прищепенко В.А., Юпатов Г.И., Окулич В.К.
Прогнозирование тяжелого течения заболевания у пациентов с вирусными пневмониями, предположительно вызванными COVID-19

Онкология

Голдыцкий С.О., Красный С.А., Демешко П.Д., Луд Н.Г.
Сравнительный анализ результатов лечения пациентов, страдающих раком предстательной железы промежуточной группы риска

Лучевая диагностика, лучевая терапия

Жерко О.М.
Эхокардиографические критерии диастолической дисфункции левого желудочка и их диагностическая надежность

Трансплантология и искусственные органы

Зыблева С.В., Зыблев С.Л.
Особенности субпопуляций дендритных клеток у пациентов при трансплантации почки

Психиатрия

Бизиukeвич С.В., Карпюк В.А.
Сравнительная характеристика распределения аллелей и полиморфизмов генов фолатного цикла у детей с расстройствами аутистического спектра и здоровых детей г. Гродно и Гродненской области

Технология получения лекарств. Фармацевтическая химия, фармакогнозия. Организация фармацевтического дела

Кугач В.В., Шабунин Е.С.
Исследование причин вызовов бригад скорой (неотложной) медицинской помощи в аптеки города Витебска за 2016-2018 гг.

Юбилей

К юбилею Александра Михайловича Литвякова. 70 лет со дня рождения

Некролог

Правила для авторов

Infectious diseases

69 Pryshchepenka V.A., Yupatau H.I., Okulich V.K.
Prognostication of the severe disease course in patients with viral pneumonia presumably caused by COVID-19

Oncology

79 Goldytski S.O., Krasny S.A., Demeshko P.D., Lud N.G.
Comparative analysis of treatment outcomes in patients with intermediate-risk prostate cancer

Radiodiagnosis and radiotherapy

87 Zherko O.M.
Echocardiographic criteria of diastolic dysfunction of the left ventricle and their diagnostic reliability

Transplantology and artificial organs

96 Zybleva S.V., Zyblev S.L.
The peculiarities of dendritic cells subpopulations in patients on kidney transplantation

Psychiatry

106 Biziukevich S.V., Karpiuk V.A.
Comparative characteristics of the distribution of alleles and polymorphisms of the folate cycle genes in children with autism spectrum disorders and healthy children of Grodno and Grodno region

Technology of drugs production. Pharmaceutical chemistry, pharmacognosy. Organization of pharmacy

112 Kuhach V.V., Shabunin Y.S.
Research of the reasons for calling in emergency medical care teams to the pharmacies of Vitebsk city during 2016-2018

Jubilee

119 To the 70th anniversary of A.M. Litvyakov

121 Obituary

122 Instructions for authors

ИНТРАВИТРЕАЛЬНЫЕ ИНЪЕКЦИИ В ЛЕЧЕНИИ РЕТИНОБЛАСТОМЫ

МАКАРЕВИЧ О.О.

Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии, г. Минск, Республика Беларусь

Вестник ВГМУ. – 2020. – Том 19, №3. – С. 7-13.

INTRAVITREAL INJECTIONS IN RETINOBLASTOMA TREATMENT

MAKAREVICH O.O.

Belarusian Research Center for Pediatric Oncology, Hematology and Immunology, Minsk, Republic of Belarus

Vestnik VGMU. 2020;19(3):7-13.

Резюме.

Ретинобластома – наиболее часто встречающаяся первичная внутриглазная злокачественная опухоль детского возраста. Существует множество терапевтических возможностей для лечения данной опухоли, среди них системная полихимиотерапия и консолидирующие локальные методы контроля опухолевого процесса (криодеструкция, транспупиллярная термотерапия, транспупиллярная термохимиотерапия, лазерная абляция и др.), позволяющие избежать энуклеации и дистанционной лучевой терапии. Как правило, хороших результатов удается достичь применением системной или интраартериальной химиотерапии в комбинации с лазерным лечением, но при наличии опухолевых клеток в стекловидном теле данная терапия является неэффективной. Интравитреальные инъекции цитостатических препаратов при ретинобластоме – метод лечения витреальных опухолевых отсевов, которые не поддаются лечению другими способами. Витреальные отсевы без применения интравитреальных инъекций приводят впоследствии к прогрессированию заболевания и к энуклеации глазного яблока. Для выполнения интравитреальных инъекций использовались такие препараты, как тиотепа, мелфалан, метотрексат, карбоплатин и др. В своих исследованиях Канеко и Судзуки определили, что мелфалан оказался самым эффективным препаратом среди 12, которые тестировались *in vitro*, а также впоследствии стало известным, что данный препарат не токсичен для сетчатки.

Ключевые слова: ретинобластома, интравитреальные инъекции, витреальные отсевы, цитостатические препараты.

Abstract.

Retinoblastoma is the most common primary intraocular malignancy in infancy and childhood. There are many modalities for the management of retinoblastoma including polychemotherapy and focal consolidation therapeutic methods of tumoral process control (cryodestruction, transpupillary thermotherapy, transpupillary thermochemotherapy, laser ablation and others) that allow to avoid enucleation or external beam radiotherapy. Good results are usually achieved by providing systemic or intra-arterial chemotherapy combined with focal laser therapy, but the presence of vitreous seeds is an obstacle and it affects the final prognosis and eye salvage. Intravitreal injection of cytotoxic drugs in retinoblastoma is a method of treating vitreous seeds that cannot be treated with any other methods. Vitreous seeds without intravitreal injections application subsequently lead to the progression of the disease and to the eyeball enucleation. Several therapeutic agents were used for administering intravitreal injections such as thiotepa, melphalan, carboplatin and methotrexate, etc. Kaneko and Suzuki in their researches have found out that melphalan was the most effective drug among 12 drugs tested *in vitro*, and afterwards it has also been found that this drug is not toxic to the retina.

Key words: retinoblastoma, intravitreal injections, vitreous seeds, cytotoxic drugs.

Ретинобластома – наиболее часто встречающаяся внутриглазная опухоль у детей, имеющая нейроэктодермальное происхождение. Ре-

тинобластома составляет 3% от злокачественных опухолей, встречающихся у детей. Лечение ретинобластомы – сложная задача, которую решает

команда специалистов. В распоряжении врачей имеются различные терапевтические возможности, направленные на сохранение жизни ребенка, органа зрения, а также зрительных функций маленьких пациентов. Среди методов лечения выделяют системную химиотерапию, дистанционную лучевую терапию, брахитерапию, криодеструкцию, лазерные методы лечения, интраартериальную химиотерапию и интравитреальные инъекции. Каждая из данных опций очень важна в лечении ретинобластомы. Как правило, используется совокупность методик, но единого подхода к лечению ретинобластомы во всем мире не существует на данный момент. Особый интерес представляют интравитреальные инъекции при ретинобластоме, так как безопасность их применения при данном заболевании до настоящего времени остается поводом для дискуссий.

История применения интравитреальных инъекций в лечении ретинобластомы

Исторические методы лечения ретинобластомы, такие как дистанционная лучевая терапия и системная химиотерапия, не обладают достаточной эффективностью при лечении опухолевых отсеков в стекловидном теле. Это относится к первичным опухолевым отсекам, а также отсекам, возникающим при рецидивах заболевания. В прошлом это заставляло исследователей искать эффективную систему доставки цитостатических препаратов для лечения витреальных отсеков ретинобластомы.

Одним из главных принципов консервативного лечения интраокулярной ретинобластомы считалось сохранение целостности оболочек глазного яблока на протяжении активного периода лечения пациента. Другими словами, любые процедуры, сопровождающиеся проколом глазного яблока с диагностической либо терапевтической целью, категорически отвергались из-за риска распространения злокачественных клеток за пределы оболочек глазного яблока. Данные представления подтверждаются рядом исследователей, описывающих орбитальную либо метастатическую ретинобластому, развившуюся в результате операций, проведенных на глазах, в которых не предполагалось наличие ретинобластомы на диагностическом этапе (витрэктомия *pars plana*, операции по поводу глаукомы и удалению катаракты). Распространение опухолевых клеток связано с рефлюксом внутриглазной жидкости, содержащей жизнеспособные опухолевые

клетки, возникающим при извлечении хирургических инструментов и излитии внутриглазного содержимого в момент проведения хирургических вмешательств. Особую опасность представляют длительные операции с вскрытием стенок глазного яблока на большом протяжении как при экстракапсулярной экстракции катаракты, так и во время применения системы непрерывного внутриглазного орошения с положительным давлением при витрэктомии [1]. В то же время тонкоигольная аспирационная биопсия должна быть не так опасна в контексте распространения ретинобластом, так как данная процедура занимает мало времени, характеризуется отрицательным давлением в полости глаза, что сводит риск излития внутриглазных жидкостей с опухолевыми клетками за пределы оболочек глазного яблока к минимуму. В то же время возможно распространение опухолевых клеток вдоль игольного тракта. Опухолевые клетки были обнаружены *ex vivo* в глазах, которые подверглись энуклеации после выполнения тонкоигольной аспирационной биопсии [2, 3]. Жизнеспособность данных опухолевых клеток *in vivo* остается сомнительной, так как рецидивов в экстраокулярных тканях обнаружено не было [4] после проведения тонкоигольной аспирационной биопсии иглой 25 G, за исключением одного неопубликованного случая [5].

Несмотря на очевидный риск рефлюкса, интравитреальное введение различных цитостатических средств проводилось в качестве «терапии отчаяния» в глазах с рецидивирующими витреальными отсеками, в том числе применяли тиотепу [6, 7], мелфалан [8, 9] и метотрексат [10]. Данных об экстрализации опухолевого процесса в результате проведенных инъекций не приводилось. Во всех этих исследованиях не проводилось практически никаких профилактических мер по предотвращению опухолевой диссеминации.

Начало внутриглазных инъекций при ретинобластоме было положено Эриксоном и Розенгеном в 1961 году с использованием тиотепы. Две отдельные группы снова использовали один и тот же агент через 3 десятилетия, а затем через 4 десятилетия. В последующие годы несколько препаратов использовались для внутриглазных инъекций при ретинобластоме, включая тимидинкиназу [11, 12], бевацизумаб [7, 13], метотрексат [10, 14], карбоплатин [14], и даже топотекан [10, 15]. Большой опыт Канеко и Судзуки положил начало интравитреальному использованию мелфалана. Эксперименты *in vitro* показали, что мелфалан

является эффективным препаратом в отношении ретинобластомы, который стал применяться как для интраартериальной химиотерапии, так и для интравитреальных инъекций. Из 52 статей, проиндексированных в «Medline» с пометками «ретинобластома» и «стекловидное тело» в их заголовках, 60% (31) из них были опубликованы с 2011 года, что свидетельствует о популярности этой темы в последние годы. Уровни эффективности для внутривенного введения мелфалана при лечении ретинобластомы были оценены в 60-100%, что является ошеломляющим ответом по сравнению с предшествующими методами. Препараты, которые вводятся при проведении интраартериальной химиотерапии, являются очевидным выбором для интравитреальных инъекций. Помимо мелфалана к ним относятся карбоплатин и топотекан. Мировая литература по интравитреальному применению карбоплатина у людей состоит из 2 случаев: 1 пациент получил одну инъекцию 3 мкг, а второй получил инъекцию в 6 мкг. Ни один глаз не показал ответа на лечение, и оба глаза были энуклеированы. С другой стороны, благодаря своему механизму действия топотекан обычно вводят в сочетании с другими цитостатическими средствами. Кроме того, некоторые группы комбинируют инъекции топотекана по 20 мкг с интравитреальным введением мелфалана. Некоторые клиники используют только топотекан для интравитреальных инъекций и достигают элиминации отсевов в стекловидном теле, однако эти результаты подтверждаются не всеми центрами.

Одновременно интраартериальная химиотерапия приобрела популярность и с тех пор стала первой линией лечения ретинобластомы в большинстве крупных центров. По сравнению с другими методами, интраартериальная химиотерапия обладает очень хорошей эффективностью в отношении витреальных отсевов. Однако эффективность данного метода очень сильно зависит от квалифицированной слаженной работы команды и даже тогда результат не всегда достигается в отношении всех опухолевых отсевов в стекловидном теле.

Техника проведения интравитреальных инъекций значительно отличается в различных клинических центрах. Обычно инъекция выполняется в области *pars plana*, примерно в 3 мм от лимба (хотя это расстояние может меняться в зависимости от возраста ребенка). Первоначально инъекции выполняли с недельным интервалом, некоторые центры продлили интервал до меся-

ца; 30 мкг - доза, которую большинство центров вводили в начале, но некоторые снижают дозу до 20 мкг. Наконец, некоторые центры сочетают интравитреальное введение мелфалана с периферическим или интравитреальным введением топотекана в надежде получить потенцирование эффекта. Количество инъекций зависит от того, к какой разновидности относятся витреальные отсевы. Классификация опухолевых витреальных отсевов [16, 17] была разработана для определения количества необходимых инъекций, кумулятивной дозы мелфалана, а также времени, необходимого для регрессии отсевов.

Классификация опухолевых витреальных отсевов

1. Пыль.

Пыль появляется как порошок, разбрызганный по поверхности опухоли. Существует мнение, что данные отсевы происходят от смещения опухолевых клеток в стекловидное тело. Пыль обычно возникает у детей самого младшего возраста (в среднем 11 месяцев) по сравнению с другими видами отсевов (сферы и облака). Характерно, что данные отсевы обнаруживаются в одном месте, локально, обычно перекрывая опухоль сетчатки.

Регрессия при интравитреальном введении мелфалана происходит при наименьшей кумулятивной дозе, наименьшей средней дозе лекарственного средства и наименьшем количестве инъекций. Данный вид витреальных отсевов реагирует примерно через 2 недели после первой из еженедельных инъекций, что является кратчайшим периодом времени по сравнению с другими видами отсевов. Пыль, как правило, превращается в офтальмоскопически не обнаруживаемый, так называемый тип регрессии 0.

2. Сферы

Сферы имеют округлую форму и могут перемежаться с пылью или облаками. Они могут быть однородными или иметь внешнюю оболочку, которая отличается от внутренней сердцевины (она может быть полупрозрачной или прозрачной). Некоторые исследователи утверждают, что сферы являются результатом клональной экспансии опухолевых клеток, которые перемещаются в стекловидное тело. Сферы преимущественно происходят из постэкваториальной области глазного дна и возникают в равной степени у детей с односторонним и двусторонним заболеванием. Их можно найти локализовано и диффузно в

стекловидном теле. Сферы регрессируют в ответ на интравитреально введенный мелфалан приблизительно через 6-8 недель, что является средней продолжительностью ответа по сравнению с пылью и облаками. Они получают значительно меньше инъекций и меньшую кумулятивную дозу мелфалана, чем облака, чтобы регрессия стала очевидной. Сферы сначала рассеиваются (псевдорост), а затем принимают 1 из 3 паттернов регрессии: не обнаруживаемые с помощью офтальмоскопии (тип регрессии 0), кальцинированные (тип регрессии I) или аморфные следы (тип регрессии II) или комбинация последних 2 типов регрессии (тип регрессии III).

3. Облака

Облака появляются вследствие скопления помутнений стекловидного тела, которые часто настолько плотны, что их трудно отличить от опухоли сетчатки. Данные отсева могут иметь истонченные, заостренные края, простирающиеся в стекловидное тело. Пыль и сферы могут сопровождать данный вид отсева. Одна из теорий предполагает, что облака являются результатом массивного переноса опухолевых клеток в стекловидное тело. Облака обычно возникают у детей старшего возраста. Они преимущественно происходят из самой передней части глазного дна – между экватором и зубчатой линией. Данный вид отсева имеет явное преобладание у детей с односторонним заболеванием, в отличие от пыли и сфер, которые могут встречаться как при монолатеральной, так и при билатеральной ретинобластоме. Имеют диффузное распространение. Облакам требуется больше времени для регрессии (7-8 месяцев), при этом они получают больше инъекций и более высокую кумулятивную и среднюю дозу мелфалана. Как правило, облака первоначально регрессируют до кальцинированных или аморфных гранул. В течение длительного времени эти отсева становятся не обнаруживаемыми при офтальмоскопии. Из-за длительного периода регрессии, иногда ошибочно полагают, что витреальные отсева в виде облаков все еще активны и возможно выполнение энуклеации, которой можно было избежать.

Описание процедуры выполнения интравитреальных инъекций при ретинобластоме

Критерии соответствия

Показания к проведению интравитреаль-

ных инъекций должны соответствовать следующим условиям:

оценивается с помощью ультразвуковой биомикроскопии область pars plana (плоская часть цилиарного тела):

- 1) наличие прозрачных сред в месте инъекции;
- 2) отсутствие инвазии передней и задней камеры глазного яблока;
- 3) отсутствие опухоли в месте предполагаемого вкола иглы;
- 4) отсутствие витреальных отсева в месте предполагаемого вкола иглы;
- 5) отсутствие отслойки сетчатки в месте предполагаемого проведения инъекции.

Техника инъекции

Вся процедура проводится под микроскопом в условиях медикаментозного мидриаза под наркозом.

Создание временной гипотонии

Парацентез передней камеры [18] проводился через трек роговицы лимба, созданный с помощью клинка 25G (диаметр составляет 0,5 мм) без перфорирования десцеметовой мембраны. Игла 32G (внешний диаметр иглы 0,23 мм), установленная на туберкулиновый шприц, вводится через трек тангенциально в переднюю камеру по периферии и параллельно радужной оболочке. Объем 0,1-0,15 мл (объем равный тому, который планируется ввести при выполнении интравитреальной инъекции) водянистой влаги аспирируется и отправляется для цитологического анализа. При извлечении иглы не должно быть излития влаги передней камеры.

Альтернативным способом снижения внутриглазного давления для предупреждения рефлюкса содержимого стекловидного тела с опухолевыми клетками в момент выполнения интравитреальной инъекции может быть использование пальцевого массажа глазного яблока в течение одной минуты непосредственно перед инъекцией с последующим контролем внутриглазного давления [11].

Интравитреальная инъекция

Место для интравитреальной инъекции располагается в 2,5-3,5 мм от лимба в необходимом меридиане. Затем игла 32G, установленная на туберкулиновом шприце, вводится перпендикулярно через конъюнктиву и склеру до тех пор, пока кончик иглы не достигнет центра полости стекловидного тела. Время для позиционирования иглы не должно превышать 10 с. Расчетный

объем вводится болюсно в течение 5 с при визуализации кончика иглы. Доза мелфалана составляет 20 мкг, но ее можно увеличивать на 2-4 мкг до 30 мкг в каждой из следующих ситуаций: возраст старше 2 лет; диффузный характер и / или высокая плотность отсевов; предыдущее интраартериальное воздействие мелфалана; рецидив после предыдущей интравитреальной инъекции.

Три цикла заморозки и оттаивания (6 с каждый) применяются без отступа от места инъекции во время извлечения иглы с помощью криохирургической офтальмологической системы [18].

Che'vez-Barríos и его коллеги использовали «транскорнеальный подход» (через роовицу) вместо более широко используемого местоположения *pars plana* для минимизирования риска распространения опухоли во время инъекции [11].

Еще одним способом предотвращения диссеминации опухолевых клеток является субконъюнктивальное или субтеноновое введение цитостатического препарата в проекции проводимой интравитреальной инъекции [7, 14].

Окончательные меры

После проведения процедуры в 1 мм от лимба фиксируется пинцетом конъюнктив и тенонова капсула, глазное яблоко вращается во всех направлениях, без давления, для улучшения диффузии цитостатического средства. После процедуры назначаются инстиляции антибиотика и глюкокортикоидов 3 раза в день в течение 1 недели.

Оценка статуса глазного яблока после проведения инъекции проводится через 7-10 дней, выполняется последующая инъекция препарата. Мониторинг проводился под наркозом с помощью фотографии глазного дна с использованием ретинальной педиатрической камеры и ультразвукового исследования (В-сканирования). При каждом посещении оценивается остаточная масса опухолевых отсевов. Интравитреальные инъекции выполняются каждые 7-10 дней, вплоть до восьми инъекций, до тех пор, пока не наблюдается полная фрагментация отсевов или не достигается полный ответ. Полный ответ считается достигнутым в том случае, если витреальные отсевы (1) полностью исчезли (регрессия отсевов стекловидного тела тип 0) или преобразованы в (2) остатки кальцинированного материала (регрессия отсевов стекловидного тела типа I), или аморфные следы (тип регрессии II) или комбинация последних 2 типов регрессии (тип регрессии III). Консолидирующая инъекция, как правило, выполняется при достижении полного ответа во

время очередного контроля. Курс интравитреальных инъекций может быть повторен, если рецидив отсевов в стекловидном теле произошел из другого источника. Одновременно с этим возможно применение других локальных методов лечения, чтобы уничтожить источник витреальных отсевов на сетчатке. Осложнения систематически оцениваются перед каждой инъекцией с помощью фотографии на ретинальной педиатрической камере и в отдельных случаях с помощью флуоресцентной ангиографии. Оценка осложнений ограничивается наличием или отсутствием локальной периферической ретинопатии.

Для интравитреальных инъекций используется мелфалан, поставляемый в виде 50 мг стерильного лиофилизированного порошка с 10 мл специального растворителя, содержащего повидон и пропиленгликоль, для разведения. Упаковки хранятся при комнатной температуре (15-25°C) в защищенном от света месте. Раствор готовится в помещении биологической безопасности (уровень III). После восстановления до 5 мг / мл раствор встряхивается до достижения прозрачности. Перед введением 1 мл раствора мелфалана дополнительно разбавляется в 24 мл 0,9% хлорида натрия до концентрации мелфалана 0,2 мг / мл (200 мкг/мл). Восстановленное лекарственное средство в объеме, равном 0,3 мл, переносят в шприц Люер Лок (Luer Lock) объемом 1мл. В результате 0,1 мл раствора содержит 20 мкг препарата, 0,125 мл – 25 мкг, 0,15 мл – 30 мкг мелфалана соответственно [19]. Конечное разведение стабильно в течение 3 часов при температуре 2-8°C.

Заключение

Существует как минимум пять параметров, возможно, ответственных за риск роста экстраокулярной опухоли после проведения интравитреальной инъекции, а именно: (1) количество инъекций и диаметр тракта иглы; (2) наличие опухоли в месте введения иглы; (3) градиент давления на склеру во время процедуры; (4) чрезмерная продолжительность воздействия и (5) потенциальное распространение опухолевых клеток по тракту иглы. Для минимизации роли каждого из данных факторов предусмотрены следующие ключевые моменты: создание гипотонии для исключения рефлюкса внутриглазной жидкости с опухолевыми клетками (аспирация влаги передней камеры в объеме, который планируется ввести интравитреально, либо массаж глазного яблока перед проце-

дурой); выполнение ультразвуковой биомикроскопии перед процедурой для исключения попадания иглы в опухолевый клон, а также для исключения попадания клеток ретинобластомы в субретинальное пространство при наличии отслойки сетчатки; использование иглы 32G, создающей минимальное склеральное отверстие около 10 микрон; короткая продолжительность процедуры (10 с для позиционирования иглы и 5 с для введения препарата непосредственно); стерилизация тракта иглы путем нанесения криоаппликаций в месте инъекции в момент извлечения иглы.

Для решения вопроса о применении интравитреальных инъекций при лечении ретинобластомы должны соблюдаться следующие условия: показания обсуждаются командой специалистов, занимающихся лечением ретинобластомы в специализированном онкологическом центре, процедура выполняется хирургом-онкоофтальмологом, меридиан для выполнения инъекции тщательно отобран, не содержит опухолевых масс и хорошо визуализируется, нет противопоказаний для выполнения интравитреальной инъекции (глаза группы E по международной классификации ретинобластомы, а также наличие опухолевых масс в передних отделах стекловидного тела). Также важным является тот факт, что данные инъекции не заменяют основные методы лечения ретинобластомы и не могут использоваться изолированно. Таким образом, интравитреальные инъекции имеют низкую стоимость по сравнению с другими доступными консолидирующими методами, такими как интраартериальная химиотерапия или дистанционная лучевая терапия, безопасность и эффективность данной процедуры высоки, однако исследования в этой области ведутся и в настоящее время.

Особую благодарность выражаю научному руководителю Конопле Наталье Евгеньевне за критический анализ и редактирование данной статьи.

I express profound gratitude to my scientific supervisor Konoplya Natalya Evgenyevna for her critical analysis and revising this article.

Литература

1. Vitrectomy in eyes with unsuspected retinoblastoma / C. L. Shields [et al.] // Ophthalmology. – 2000 Dec. – Vol. 107, N 12. – P. 2250–2255.
2. Karcioğlu, Z. A. Tumor seeding in ocular fine needle aspiration biopsy / Z. A. Karcioğlu, R. A. Gordon, G. L. Karcioğlu // Ophthalmology. – 1985 Dec. – Vol. 92, N 12. – P. 1763–1767.
3. Fine needle aspiration biopsy in pediatric ophthalmic tumors and pseudotumors / B. J. O'Hara [et al.] // Acta Cytol. – 1993 Mar-Apr. – Vol. 37, N 2. – P. 125–130.
4. Eide, N. Fine-needle aspiration biopsy and other biopsies in suspected intraocular malignant disease: a review / N. Eide, L. Walaas // Acta Ophthalmol. – 2009 Sep. – Vol. 87, N 6. – P. 588–601.
5. Karcioğlu, Z. A. Fine needle aspiration biopsy (FNAB) for retinoblastoma / Z. A. Karcioğlu // Retina. – 2002 Dec. – Vol. 22, N 6. – P. 707–710.
6. Ericson, L. A. Present therapeutic resources in retinoblastoma / L. A. Ericson, B. H. Rosengren // Acta Ophthalmol. (Copenh.). – 1961. – Vol. 39. – P. 569–576.
7. Seregard, S. Intravitreal chemotherapy for recurrent retinoblastoma in an only eye / S. Seregard, E. Kock, E. af Trampe // Br. J. Ophthalmol. – 1995 Feb. – Vol. 79, N 2. – P. 194–195.
8. Kaneko, A. Eye-preservation treatment of retinoblastoma with vitreous seeding / A. Kaneko, S. Suzuki // Jpn. J. Clin. Oncol. – 2003 Dec. – Vol. 33, N 12. – P. 601–607.
9. Suzuki, S. Management of intraocular retinoblastoma and ocular prognosis / S. Suzuki, A. Kaneko // Int. J. Clin. Oncol. – 2004 Feb. – Vol. 9, N 1. – P. 1–6.
10. Kivela, T. Intravitreal methotrexate for retinoblastoma / T. Kivela, S. Eskelin, M. Paloheimo // Ophthalmology. – 2011 Aug. – Vol. 118, N 8. – P. 1689–1699.
11. Response of retinoblastoma with vitreous tumor seeding to adenovirus-mediated delivery of thymidine kinase followed by ganciclovir / P. Chevez-Barrios [et al.] // J. Clin. Oncol. – 2005 Nov. – Vol. 23, N 31. – P. 7927–7935.
12. Local and Systemic toxicity of intravitreal melphalan for vitreous seeding in retinoblastoma: a preclinical and clinical study / J. H. Francis [et al.] // Ophthalmology. – 2014 Sep. – Vol. 121, N 9. – P. 1810–1817.
13. Globe conserving treatment of the only eye in bilateral retinoblastoma / V. Lee [et al.] // Br. J. Ophthalmol. – 2003 Nov. – Vol. 87, N 11. – P. 1374–1380.
14. Combined intravitreal and subconjunctival carboplatin for retinoblastoma with vitreous seeds / S. J. Smith [et al.] // Br. J. Ophthalmol. – 2012 Aug. – Vol. 96, N 8. – P. 1073–1077.
15. Combined intravitreal melphalan and topotecan for refractory or recurrent vitreous seeding from retinoblastoma / F. Ghassemi [et al.] // JAMA Ophthalmol. – 2014 Aug. – Vol. 132, N 8. – P. 936–941.
16. The classification of vitreous seeds in retinoblastoma and response to intravitreal melphalan / J. H. Francis [et al.] // Ophthalmology. – 2015 Jun. – Vol. 122, N 6. – P. 1173–1179.
17. Munier, F. L. Classification and management of seeds in retinoblastoma. Ellsworth Lecture Ghent August 24th 2013 / F. L. Munier // Ophthalmic Genet. – 2014 Dec. – Vol. 35, N 4. – P. 193–207.
18. Profiling safety of intravitreal injections for retinoblastoma using an anti-reflux procedure and sterilisation of the needle track / F. L. Munier [et al.] // Br. J. Ophthalmol. – 2012 Aug. – Vol. 96, N 8. – P. 1084–1087.
19. Intravitreal Melphalan Chemotherapy for Vitreous Seeds in Retinoblastoma / Y. A. Yousef [et al.] // J. Ophthalmol. – 2020 Jan. – Vol. 2020. – P. 8628525.

*Поступила 19.02.2020 г.
Принята в печать 01.06.2020 г.*

References

- Shields CL, Honavar S, Shields JA, Demirci H, Meadows A. Vitrectomy in eyes with unsuspected retinoblastoma. *Ophthalmology*. 2000 Dec;107(12):2250-5. doi: 10.1016/s0161-6420(00)00427-9
- Karcioglu ZA, Gordon RA, Karcioglu GL. Tumor seeding in ocular fine needle aspiration biopsy. *Ophthalmology*. 1985 Dec;92(12):1763-7. doi: 10.1016/s0161-6420(85)34105-2
- O'Hara BJ, Ehya H, Shields JA, Augsburger JJ, Shields CL, Eagle Jr RC. Fine needle aspiration biopsy in pediatric ophthalmic tumors and pseudotumors. *Acta Cytol*. 1993 Mar-Apr;37(2):125-30.
- Eide N, Walaas L. Fine-needle aspiration biopsy and other biopsies in suspected intraocular malignant disease: a review. *Acta Ophthalmol*. 2009 Sep;87(6):588-601. doi: 10.1111/j.1755-3768.2009.01637.x
- Karcioglu ZA. Fine needle aspiration biopsy (FNAB) for retinoblastoma. *Retina*. 2002 Dec;22(6):707-10. doi: 10.1097/00006982-200212000-00004
- Ericson LA, Rosengren BH. Present therapeutic resources in retinoblastoma. *Acta Ophthalmol (Copenh)*. 1961;39:569-76. doi: 10.1111/j.1755-3768.1961.tb00269.x
- Seregard S, Kock E, af Trampe E. Intravitreal chemotherapy for recurrent retinoblastoma in an only eye. *Br J Ophthalmol*. 1995 Feb;79(2):194-5. doi: 10.1136/bjo.79.2.194
- Kaneko A, Suzuki S. Eye-preservation treatment of retinoblastoma with vitreous seeding. *Jpn J Clin Oncol*. 2003 Dec;33(12):601-7.
- Suzuki S, Kaneko A. Management of intraocular retinoblastoma and ocular prognosis. *Int J Clin Oncol*. 2004 Feb;9(1):1-6. doi: 10.1007/s10147-003-0366-0
- Kivela T, Eskelin S, Paloheimo M. Intravitreal methotrexate for retinoblastoma. *Ophthalmology*. 2011 Aug;118(8):1689, 1689.e1-6. doi: 10.1016/j.ophtha.2011.02.005
- Chévez-Barrios P, Chintagumpala M, Mieler W, Paysse E, Boniuk M, Kozinetz C, et al. Response of retinoblastoma with vitreous tumor seeding to adenovirus-mediated delivery of thymidine kinase followed by ganciclovir. *J Clin Oncol*. 2005 Nov;23(31):7927-35. doi: 10.1200/JCO.2004.00.1883
- Francis JH, Schaiquevich P, Buitrago E, Del Sole MJ, Zapata G, Croxatto JO, et al. Local and Systemic toxicity of intravitreal melphalan for vitreous seeding in retinoblastoma: a preclinical and clinical study. *Ophthalmology*. 2014 Sep;121(9):1810-7. doi: 10.1016/j.ophtha.2014.03.028.
- Lee V, Hungerford JL, Bunce C, Ahmed F, Kingston JE, Plowman PN. Globe conserving treatment of the only eye in bilateral retinoblastoma. *Br J Ophthalmol*. 2003 Nov;87(11):1374-80. doi: 10.1136/bjo.87.11.1374
- Smith SJ, Pulido JS, Salomão DR, Smith BD, Mohny B. Combined intravitreal and subconjunctival carboplatin for retinoblastoma with vitreous seeds. *Br J Ophthalmol*. 2012 Aug;96(8):1073-7. doi: 10.1136/bjophthalmol-2011-300829
- Ghassemi F, Shields CL, Ghadimi H, Khodabandeh A, Roohipoor R. Combined intravitreal melphalan and topotecan for refractory or recurrent vitreous seeding from retinoblastoma. *JAMA Ophthalmol*. 2014 Aug;132(8):936-41. doi: 10.1001/jamaophthalmol.2014.414
- Francis JH, Abramson DH, Gaillard M-C, Marr BP, Popovic MB, Munier FL. The classification of vitreous seeds in retinoblastoma and response to intravitreal melphalan. *Ophthalmology*. 2015 Jun;122(6):1173-9. doi: 10.1016/j.ophtha.2015.01.017
- Munier FL. Classification and management of seeds in retinoblastoma. *Ellsworth Lecture Ghent August 24th 2013*. *Ophthalmic Genet*. 2014 Dec;35(4):193-207. doi: 10.3109/13816810.2014.973045
- Munier FL, Soliman S, Moulin AP, Gaillard M-C, Balmer A, Beck-Popovic M. Profiling safety of intravitreal injections for retinoblastoma using an anti-reflux procedure and sterilisation of the needle track. *Br J Ophthalmol*. 2012 Aug;96(8):1084-7. doi: 10.1136/bjophthalmol-2011-301016
- Yousef YA, Noureldin AM, Sultan I, Deebajah R, Al-Hussaini M, Shawagfeh M, et al. Intravitreal Melphalan Chemotherapy for Vitreous Seeds in Retinoblastoma. *J Ophthalmol*. 2020 Jan;2020:8628525. doi: 10.1155/2020/

Submitted 19.02.2020

Accepted 01.06.2020

Сведения об авторах:

Макаревич О.О. – аспирант Республиканского научно-практического центра детской онкологии, гематологии и иммунологии.

Information about authors:

Makarevich O.O. – postgraduate of the Belarusian Research Center for Pediatric Oncology, Hematology and Immunology.

Адрес для корреспонденции: Республика Беларусь, 223053, Минский р-н, д. Боровляны, ул. Фрунзенская, д. 43, Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии. E-mail: vogika@yandex.ru – Макаревич Оксана Олеговна.

Correspondence address: Republic of Belarus, 223053, Minsk district, village of Borovlyany, 43 Frunzenskaya str., Belarusian Research Center for Pediatric Oncology, Hematology and Immunology. E-mail: vogika@yandex.ru – Oksana O. Makarevich.

РЕВМАТОИДНЫЙ АРТРИТ И АТЕРОСКЛЕРОЗ: ФОКУС НА ХРОНИЧЕСКУЮ ИНФЕКЦИЮ. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

ПАЛЬГУЕВА А.Ю., ЛИТВЯКОВ А.М.

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

Вестник ВГМУ. – 2020. – Том 19, №3. – С. 14-22.

RHEUMATIC ARTHRITIS AND ATHEROSCLEROSIS: FOCUS ON PERSISTENT INFECTION. LITERATURE REVIEW

PALHUYEVA H.Y., LITVYAKOV A.M.

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

Vestnik VGMU. 2020;19(3):14-22.

Резюме.

Эпидемиологические, клинические и лабораторные исследования последних лет указывают на то, что системные ревматические заболевания сопровождаются прогрессирующим развитием атеросклероза и его осложнений и их следует рассматривать как независимые факторы риска атеросклеротической болезни.

Среди системных ревматических заболеваний с клиническим преобладанием суставного синдрома выделяется ревматоидный артрит (РА). Ведущей причиной преждевременной смертности пациентов с РА является кардиоваскулярная патология – инфаркт миокарда, сердечно-сосудистая недостаточность, инсульт. У молодых лиц с небольшой продолжительностью заболевания и при низкой активности воспалительного процесса было доказано наличие начальных изменений артерий атеросклеротического характера.

В основе атеросклероза и РА лежит хронический воспалительный процесс со схожими молекулярными и клеточными механизмами.

Одной из причин развития системного воспаления могут быть хронические инфекции. В качестве возможных кандидатов рассматриваются *Chlamydomphila pneumoniae*, *Mycoplasma pneumoniae*, *Helicobacter pylori*, *Herpes Simplex Virus-1*, *Cytomegalovirus*.

Роль хронических бактериальных и вирусных инфекций в развитии атеросклероза частично может быть связана с их способностью вызывать изменения проатерогенного характера в липидном обмене.

Как и при атеросклерозе, в этиопатогенезе РА в качестве возможных триггерных факторов рассматриваются различные инфекционные агенты.

Ключевые слова: атеросклероз, ревматоидный артрит, атеросклеротическая бляшка, воспаление, инфекция.

Abstract.

Epidemiological, clinical and laboratory studies of the recent years indicate that systemic rheumatic diseases are accompanied by the progressive development of atherosclerosis and its complications, and they should be considered as independent risk factors for atherosclerotic disease.

Among systemic rheumatic diseases with a clinical predominance of joint syndrome, rheumatoid arthritis (RA) is distinguished. The leading cause of premature death in patients with RA is cardiovascular disease – myocardial infarction, cardiovascular failure, and stroke. In young people with a short duration of the disease and low activity of the inflammatory process, the presence of initial atherosclerotic changes in the arteries has been shown.

Atherosclerosis and RA are based on the chronic inflammatory process with similar molecular and cellular mechanisms. One of the reasons for the development of systemic inflammation may be persistent infections. *Chlamydomphila pneumoniae*, *Mycoplasma pneumoniae*, *Helicobacter pylori*, *Herpes Simplex Virus-1*, *Cytomegalovirus* are considered as possible candidates.

The role of persistent bacterial and viral infections in the development of atherosclerosis may partly be connected with

their ability to cause proatherogenic changes in lipid metabolism.

Various infectious agents are considered as possible trigger factors in the etiopathogenesis of RA.

Key words: atherosclerosis, rheumatoid arthritis, atherosclerotic plaques, inflammation, infection.

Ревматические заболевания как фактор риска развития атеросклероза

Доклинические изменения артерий атеросклеротического характера имеют место практически у 40% пациентов с системной красной волчанкой [1], а риск развития сердечно-сосудистой патологии у них в 5-10 раз выше, чем в популяции [2]. Прогрессирующее развитие атеросклероза коронарных артерий при системной красной волчанке было подтверждено в целом ряде исследований [3, 4]. До 25% случаев летальных исходов при данном системном ревматологическом заболевании связано с инфарктом миокарда [5, 6]. Доказано, что развитие атеросклероза при системной красной волчанке является осложнением непосредственно этого заболевания [7, 8]. Выраженность атеросклеротических изменений артерий у этой категории коррелирует с длительностью анамнеза и тяжестью течения заболевания [7, 9].

Имеются данные об ассоциации с атерогенезом системного склероза. У 64% пациентов, страдающих этим заболеванием, было выявлено утолщение КИМ общих сонных артерий [10]. Сведения в отношении развития атеросклероза при системных васкулитах довольно ограничены, тем не менее, имеются указания на ассоциацию гранулематоза Вегенера с развитием дисфункции эндотелия и изменениями интима-медиа-слоя сонных артерий [11, 12].

Другой важной группой ревматологических заболеваний, привлекающих внимание в связи с возможным проатерогенным влиянием, являются спондилоартропатии. У пациентов с анкилозирующим спондилитом описана более частая встречаемость атеросклеротического поражения периферических артерий [13]. В то же время, сведения в отношении распространенности ишемической болезни сердца при этом заболевании противоречивы [4]. Псориатический артрит также упоминается как заболевание, сопровождающееся развитием атеросклеротической болезни. [15]. Однако по другим данным различий в состоянии артериального сосудистого русла у пациентов с псориатическим артритом и

в группе здоровых лиц при сходных факторах риска нет [16].

Одним из наиболее важных системных ревматологических заболеваний в медицинском и социально-экономическом плане является РА, его распространенность в популяции колеблется от 0,5% до 1% [17]. Пик заболеваемости приходится на трудоспособный возраст, и уже через 10-15 лет после появления первых симптомов 60% заболевших имеют серьезные нарушения функциональных возможностей [18].

Еще в пятидесятых годах XX века Cobb et al. было показано, что уровень смертности у лиц с РА на 30% выше, чем в популяции [19]. Продолжительность жизни в этой группе населения по разным источникам меньше на 3-18 лет [20, 21]. Оказалось, что пятилетняя выживаемость пациентов с РА, имеющих выраженные нарушения функционального статуса, сопоставима с таковой при тяжелом поражении атеросклерозом трех коронарных сосудов [22]. Основной причиной сокращения продолжительности жизни при РА является кардиоваскулярная патология – инфаркт миокарда, сердечно-сосудистая недостаточность, инсульт [23-25]. Даже у молодых лиц с небольшой продолжительностью заболевания при низкой активности воспалительного процесса и отсутствии классических факторов риска регистрируются начальные признаки атеросклеротического поражения артерий [26]. У женщин с РА имеет место двукратное увеличение риска развития инфаркта миокарда по сравнению с женщинами без артрита, сопоставимыми по факторам риска, а при длительности анамнеза заболевания более 10 лет риск увеличивается в 3 раза [27].

Не представляется возможным объяснить прогрессирующее развитие атеросклеротической болезни при РА наличием традиционных факторов риска [23, 20], хотя в некоторых исследованиях у пациентов с РА описаны более часто встречающиеся, чем в популяции, артериальная гипертензия, дислипидемия и курение [28, 29, 30]. В исследованиях с использованием позитронно-эмиссионной томографии была показана ассоциация между воспалением аортальной стенки и наличием анти-ЦЦП и ревматоидных

узелков, независимо от наличия классических кардиоваскулярных факторов риска. [31]

Роль хронической инфекции в иммунопатогенезе ревматоидного артрита и атеросклероза

Результаты многочисленных исследований указывают на то, что в основе патогенеза РА и атеросклеротической болезни лежат общие иммунопатологические механизмы. [27, 32, 33].

Одной из причин развития системного воспаления могут быть хронические инфекции. В качестве возможных кандидатов рассматриваются *Chlamydomphila pneumoniae*, *Mycoplasma pneumoniae*, *Helicobacter pylori*, *Herpes Simplex Virus-1*, *Cytomegalovirus*.

Наибольшее количество сведений накоплено в отношении *Chlamydomphila pneumoniae*. В популяции данный микроорганизм является причиной 10% пневмоний, 5% бронхитов и синуситов [34]. Получены данные, указывающие на возможную роль этого инфекционного агента в патогенезе болезни Альцгеймера [35], таких заболеваний дыхательной системы, как бронхиальная астма [36] и хроническая обструктивная болезнь легких [37]. *In vitro* обнаружена способность *Chlamydomphila pneumoniae* инфицировать человеческие макрофаги, эндотелиальные и гладкомышечные клетки, то есть клетки, которые потенциально могут быть вовлечены в атерогенез [38]. С использованием таких современных методов, как иммуногистохимия, электронная микроскопия, полимеразная цепная реакция, культура тканей, было выявлено присутствие *Chlamydomphila pneumoniae* непосредственно в атеросклеротических бляшках [39-42]. Однако попытки предупредить развитие острого коронарного синдрома путем назначения антибактериальных препаратов, в частности азитромицина, не увенчались успехом [43, 44].

Литературные сведения в отношении остальных микроорганизмов весьма противоречивы. В атеросклеротических бляшках была обнаружена *Mycoplasma pneumoniae*, причем присутствие данного микроорганизма ассоциировалось с тромбозом в области атеромы [45, 46]. В исследовании T.W. Weiss et al. не было получено доказательств в пользу возможной роли *Mycoplasma pneumoniae* в развитии атеросклероза [47].

Существуют данные, указывающие на ас-

социацию между наличием антител к *Helicobacter pylori* и ишемической болезнью сердца, в независимости от традиционных факторов риска [48]. У здоровых мужчин, серопозитивных по *Helicobacter pylori*, обнаружены повышенные уровни СРП и ICAM-1, кроме того, в этой группе в пробе с реактивной гиперемией выявлено нарушение вазомоторной функции эндотелия [49]. В то же время в работе A. Pilotto et al. не было отличий в выраженности атеросклеротических изменений у пациентов с диспепсическими явлениями и инфицированных *Helicobacter pylori* по сравнению с группой неинфицированных лиц [50].

В нескольких сероэпидемиологических исследованиях установлено, что цитомегаловирусная инфекция ассоциируется с атеросклеротическим поражением артерий [51, 52].

Были обнаружены антитела к *Cytomegalovirus* у лиц с аневризмой абдоминального отдела аорты [53] и атеросклеротическим поражением сонных артерий [54]. В более поздних работах поставлено под сомнение значение данного вируса в патогенезе атеросклероза, так как у пациентов, которым выполняли аортокоронарное шунтирование, вирусная ДНК выявлялась как в артериях с атеросклеротическими бляшками, так и в неизмененных [55]. Также не было получено доказательств в исследовании M. Maug et al. в пользу взаимосвязи между атеросклерозом сонных, бедренных артерий и присутствием антител к *Cytomegalovirus* [56].

Показано наличие взаимосвязи между атеросклеротическими изменениями артерий и присутствием антител к вирусу *Herpes Simplex Virus-1* [57]. У умерших от инфаркта миокарда в 38% случаев был идентифицирован *Herpes Simplex Virus-1*. С помощью метода гибридизации *in situ* установлено, что вирусная ДНК преимущественно локализовалась в ядрах эндотелиальных клеток, гладкомышечных клеток, в макрофагах, расположенных вокруг атеросклеротических бляшек, и в лимфоцитах, инфильтрирующих сосудистую стенку [58]. В то же время, существуют данные, указывающие на то, что наличие IgG к *Herpes Simplex Virus-1* и *Cytomegalovirus* не является маркером повышенного риска развития осложнений атеросклероза – инфаркта и инсульта [59].

Влияние на атеросклероз хронических бактериальных и вирусных инфекций частично может быть связано с их способностью вызывать изменения проатерогенного характера в липидном обмене [60-62].

Не исключена возможность совместного влияния различных инфекционных агентов на атерогенез, показано четырехкратное увеличение риска развития коронарного атеросклероза у лиц, имеющих антитела в сыворотке крови одновременно к 4-5 патогенам [63]. Было показано, что серопозитивность сразу к нескольким микроорганизмам ассоциируется с повышением степени тяжести атеросклеротического поражения коронарных артерий [64].

Как и при атеросклерозе, в этиопатогенезе РА в качестве возможных триггерных факторов рассматриваются различные инфекционные агенты. Существует данные, указывающие на то, что РА чаще встречается у лиц, в сыворотке которых присутствуют высокие уровни антител к *Mycoplasma pneumoniae* [65]. С помощью метода полимеразной цепной реакции присутствие *Mycoplasma fermentans* в синовиальной жидкости установлено у 88% пациентов с РА [66]. Однако в работе I.M. Van der Heijden et al. только у 5 из 26 лиц с РА в синовиальной жидкости была обнаружена ДНК *Mycoplasma fermentans* [67]. При РА установлено двукратное повышение титра антител к вирусу Эпштейн-Барр в сыворотке крови, у 50% лиц была обнаружена вирусная ДНК в мононуклеарах, а в образцах клеток внутрисуставной жидкости – у 30% [68]. Существуют данные, указывающие на возможную роль парвовируса В19. В группе РА антитела к данному инфекционному агенту и вирусная ДНК идентифицировались статистически достоверно чаще, по сравнению со здоровыми лицами [69].

Роль инфекции в патогенезе РА и атеросклероза, в первую очередь хламидия-подобных микроорганизмов, требует существенного переосмысления. Находки различных микроорганизмов в очагах атероматозного поражения, в том числе *Chlamydomydia pneumoniae*, хотя и демонстрируют связь атеросклероза с инфекцией, не в состоянии объяснить, каким образом локальные инфекционные очаги обеспечивают системную проатероматозную реакцию. Есть основание предполагать наличие при атеросклерозе и при РА клинически латентной диссеминированной инфекции, иммунное реагирование на которую способно поддерживать потенциал проатерогенных аутоиммунных реакций, подобных тем, которые обнаруживаются при очевидных инфекционных процессах. Инфекция, вызывая нагрузку фагоцитов гликолипидами бактериальных мембран, безусловно, способна снизить эффективность дегра-

дации этими клетками других липопротеидов, в первую очередь, из мембран, поглощаемых апоптотных телец и липидсодержащих мицелл, поступающих из пищеварительного тракта. Даже у детей младшего возраста, у которых отсутствуют известные факторы риска атеросклероза, острые инфекционные респираторные, кишечные и урогенные заболевания сопровождаются появлением в высоком титре аутоантител к собственным окислительно-модифицированным липопротеидам низкой плотности (oxLDL) и утолщением КИМ сонных артерий [70]. Такие проатерогенные нарушения могут сохраняться свыше трех месяцев после полного исчезновения клинических проявлений индуцировавшего их инфекционного заболевания.

Заключение

1. Ревматические заболевания, в том числе РА, ассоциируются с прогрессирующим развитием атеросклероза.
2. Ключевыми моментами иммунопатогенеза атеросклероза и РА является хронический воспалительный процесс.
3. Одной из причин развития системного воспаления при обоих заболеваниях могут быть хронические инфекции.

Литература

1. Schattner, A. The cardiovascular burden of lupus: a complex challenge / A. Schattner, M. H. Liang // Arch. Intern. Med. – 2003 Jul. – Vol. 163, N 13. – P. 1507–1510.
2. Prevention of cardiovascular disease in systemic lupus erythematosus – proposed guidelines for risk factor management / J. Wajed [et al.] // Rheumatology. – 2004 Jan. – Vol. 43, N 1. – P. 7–12.
3. Cardiovascular disease a hazard despite improved prognosis in patients with systemic lupus erythematosus: results from a Swedish population based study 1964–95 / L. Bjornadal [et al.] // J. Rheumatol. – 2004 Apr. – Vol. 31, N 4. – P. 713–719.
4. Age-specific incidence rates of myocardial infarction and angina in women with systemic lupus erythematosus: comparison with the Framingham Study / S. Manzi [et al.] // Am. J. Epidemiol. – 1997 Mar. – Vol. 145, N 5. – P. 408–415.
5. Morbidity and mortality in systemic lupus erythematosus during a 5 year period: a multicenter prospective study of 1000 patients. European Working Party on Systemic Lupus Erythematosus / R. Cervera [et al.] // Medicine (Baltimore). – 1999 May. – Vol. 78, N 3. – P. 167–175.
6. Jonsson, H. Outcome in systemic lupus erythematosus: a prospective study of patients from a defined population / H. Jonsson, O. Nived, G. Surfelt // Medicine (Baltimore). –

- 1989 May. – Vol. 68, N 3. – P. 141–150.
7. Prevalence and correlates of accelerated atherosclerosis in systemic lupus erythematosus / M. J. Roman [et al.] // *N. Engl. J. Med.* – 2003 Dec. – Vol. 349, N 25. – P. 2399–2406.
 8. Premature coronary-artery atherosclerosis in systemic lupus erythematosus / Y. Azanuma [et al.] // *N. Engl. J. Med.* – 2003 Dec. – Vol. 349, N 25. – P. 2407–2415.
 9. Homocysteine levels and disease duration independently correlate with coronary artery calcification in patients with systemic lupus erythematosus / J. M. Von Feldt [et al.] // *Arthritis Rheum.* – 2006 Jul. – Vol. 54, N 7. – P. 2220–2227.
 10. Accelerated atherosclerosis in autoimmune rheumatic diseases / Y. Shoenfeld [et al.] // *Circulation.* – 2005 Nov. – Vol. 112, N 21. – P. 3337–3347.
 11. Atherosclerosis, autoimmunity, and vascular-associated lymphoid tissue / G. Wick [et al.] // *FASEB J.* – 1997 Nov. – Vol. 11, N 13. – P. 1199–1207.
 12. Accelerated atherosclerosis in patients with Wegener's granulomatosis / K. de Leeuw [et al.] // *Ann. Rheum. Dis.* – 2005 May. – Vol. 64, N 5. – P. 753–759.
 13. Cardiovascular disease and risk factors in patients with rheumatoid arthritis, psoriatic arthritis, and ankylosing spondylitis / C. Han [et al.] // *J. Rheumatol.* – 2006 Nov. – Vol. 33, N 11. – P. 2167–2172.
 14. Roman, M. J. Cardiovascular manifestations of rheumatologic diseases / M. J. Roman, J. E. Salmon // *Circulation.* – 2007. – Vol. 116, N 20. – P. 2346–2355.
 15. High prevalence of subclinical atherosclerosis in psoriatic arthritis patients without clinically evident cardiovascular disease or classic atherosclerosis risk factor / C. Gonzalez-Juanatey [et al.] // *Arthritis Rheum.* – 2007 Aug. – Vol. 57, N 6. – P. 1074–1080.
 16. Lack of echocardiographic and doppler abnormalities in psoriatic arthritis patients without clinically evident cardiovascular disease or classic atherosclerosis risk factors / C. Gonzalez-Juanatey [et al.] // *Semin. Arthritis Rheum.* – 2006 Apr. – Vol. 35, N 5. – P. 333–339.
 17. Gabriel, S. E. The epidemiology of rheumatoid arthritis / S. E. Gabriel // *Rheum. Dis. Clin. North. Am.* – 2001 May. – Vol. 27, N 2. – P. 269–281.
 18. Pincus, T. What is the natural history of rheumatoid arthritis / T. Pincus, L. F. Callahan // *Rheum. Dis. Clin. North. Am.* – 1993 Feb. – Vol. 19, N 1. – P. 123–151.
 19. Cobb, S. Length of life and cause of death in rheumatoid arthritis / S. Cobb, F. Anderson, W. Bauer // *N. Engl. J. Med.* – 1953 Oct. – Vol. 249, N 14. – P. 553–556.
 20. Van Doornum, S. Accelerated atherosclerosis: an extraarticular feature of rheumatoid arthritis / S. Van Doornum, G. McColl, I. P. Wicks // *Arthritis Rheum.* – 2002 Apr. – Vol. 46, N 4. – P. 862–873.
 21. Kvien, T. K. Epidemiology and burden of illness of rheumatoid arthritis / T. K. Kvien // *Pharmacoeconomics.* – 2004. – Vol. 22, N 2, suppl. 1. – P. 1–12.
 22. Pincus, T. Prediction of long-term mortality in patients with rheumatoid arthritis according to simple questionnaire and joints count measures / T. Pincus, R. H. Brooks, L. F. Callahan // *Ann. Intern. Med.* – 1994 Jan. – Vol. 120, N 1. – P. 26–34.
 23. High incidence of cardiovascular events in a rheumatoid arthritis cohort not explained by traditional cardiac risk factors / I. D. del Rincon [et al.] // *Arthritis Rheum.* – 2001 Dec. – Vol. 44, N 12. – P. 2737–2745.
 24. Насонов, Е. Л. Проблема атеротромбоза в ревматологии / Е. Л. Насонов // *Вестн. РАМН.* – 2003. – № 7. – С. 6–10.
 25. Kitas, G. D. Tackling ischemic heart disease in rheumatoid arthritis / G. D. Kitas, N. Erb // *Rheumatology (Oxford).* – 2003 May. – Vol. 42, N 5. – P. 607–613.
 26. Endothelial dysfunction in young patients with long-term rheumatoid arthritis and low disease activity / S. Hansel [et al.] // *Atherosclerosis.* – 2003 Sep. – Vol. 170, N 1. – P. 177–180.
 27. Cardiovascular morbidity and mortality in women diagnosed with rheumatoid arthritis / D. H. Solomon [et al.] // *Circulation.* – 2003 Mar. – Vol. 107, N 9. – P. 1303–1307.
 28. Prevalence and associations of hypertension and its control in patients with rheumatoid arthritis / V. F. Panoulas [et al.] // *Rheumatology (Oxford).* – 2007 Sep. – Vol. 46, N 9. – P. 1477–1482.
 29. Lipid profiles in untreated patients with rheumatoid arthritis / Y. B. Park [et al.] // *J. Rheumatol.* – 1999 Aug. – Vol. 26, N 8. – P. 1701–1704.
 30. Silman, A. J. Cigarette smoking increases the risk of rheumatoid arthritis. Results from a nationwide study of disease-discordant twins / A. J. Silman, J. Newman, A. J. MacGregor // *Arthritis Rheum.* – 1996 May. – Vol. 39, N 5. – P. 732–735.
 31. Arterial Inflammation Detected with 18F-Fluoro-Deoxyglucose Positron Emission Tomography in Rheumatoid Arthritis / L. Geraldino-Pardilla [et al.] // *Arthritis Rheumatol.* – 2018 Jan. – Vol. 70, N 1. – P. 30–39.
 32. Cardiovascular death in rheumatoid arthritis / H. Maradit-Kremers [et al.] // *Arthritis Rheum.* – 2005 Mar. – Vol. 52, N 3. – P. 722–732.
 33. Skeoch, S. Atherosclerosis in rheumatoid arthritis: is it all about inflammation / S. Skeoch, I. N. Bruce // *Nat. Rev. Rheumatol.* – 2015 Jul. – Vol. 11, N 7. – P. 390–400.
 34. Chlamydia pneumoniae (TWAR) / C. C. Kuo [et al.] // *Clin. Microbiol. Rev.* – 1995 oct. – Vol. 8, N 4. – P. 451–461.
 35. Identification and localization of Chlamydia pneumoniae in the Alzheimer's brain / B. Balin [et al.] // *Med. Microbiol. Immunol.* – 1998 Jun. – Vol. 187, N 1. – P. 23–42.
 36. Hahn, D. L. Association of Chlamydia pneumoniae (strain TWAR) infection with wheezing, asthmatic bronchitis, and adult-onset asthma / D. L. Hahn, R. W. Dodge, R. Golubjatnikov // *JAMA.* – 1991 Jul. – Vol. 266, N 2. – P. 225–230.
 37. Chlamydia pneumoniae infection in acute exacerbations of COPD / F. Blasi [et al.] // *Eur. Respir. J.* – 1993 Jan. – Vol. 6, N 1. – P. 19–22.
 38. Replication of Chlamydia pneumoniae in vitro in human macrophages, endothelial cells, and aortic artery smooth muscle cells / C. A. Gaydos [et al.] // *Infect. Immun.* – 1996 May. – Vol. 64, N 5. – P. 1614–1620.
 39. Demonstration of Chlamydia pneumoniae in atherosclerotic lesions of coronary arteries / C.C. Kuo [et al.] // *J. Infect. Dis.* – 1993 Apr. – Vol. 167, N 4. – P. 841–849.
 40. Isolation of Chlamydia pneumoniae from a carotid endarterectomy specimen / L. A. Jackson [et al.] // *J. Infect. Dis.* – 1997 Jul. – Vol. 176, N 1. – P. 292–295.
 41. Chlamydial heat shock protein 60 localizes in human atheroma and regulates macrophage tumor necrosis factor- α and matrix metalloproteinase expression / A. Kol [et al.] // *Circulation.* – 1998 Jul. – Vol. 98, N 4. – P. 300–307.
 42. Boman, J. Chlamydia pneumoniae and atherosclerosis:

- critical assessment of diagnostic methods and relevance to treatment studies / J. Boman, M. R. Hammerschlag // *Clin. Microbiol. Rev.* – 2002 Jan. – Vol. 15, N 1. – P. 1–20.
43. Azithromycin for secondary prevention of coronary events / J. T. Grayston [et al.] // *N. Engl. J. Med.* – 2005 Apr. – Vol. 352, N 16. – P. 1637–1645.
 44. Antibiotic treatment of Chlamydia pneumoniae after acute coronary syndrome / C. P. Cannon [et al.] // *N. Engl. J. Med.* – 2005 Apr. – Vol. 352, N 16. – P. 1646–1654.
 45. Detection of Mycoplasma pneumoniae and Chlamydia pneumoniae in ruptured atherosclerotic plaques / M. L. Higuchi [et al.] // *Braz. J. Med. Biol. Res.* – 2000 Sep. – Vol. 33, N 9. – P. 1023–1026.
 46. Co-infection with Mycoplasma pneumoniae and Chlamydia pneumoniae in ruptured plaques associated with acute myocardial infarction / Mde L. Higuchi [et al.] // *Arq. Bras. Cardiol.* – 2003 Jul. – Vol. 81, N 1. – P. 12–22, 1–11.
 47. No evidence for a direct role of Helicobacter pylori and Mycoplasma pneumoniae in carotid artery atherosclerosis / T. W. Weiss [et al.] // *J. Clin. Pathol.* – 2006 Nov. – Vol. 59, N 11. – P. 1186–1190.
 48. Relation of Helicobacter pylori infection and coronary artery disease / M. A. Mendall [et al.] // *B. Heart. J.* – 1994 May. – Vol. 71, N 5. – P. 437–439.
 49. Association of Helicobacter pylori infection with systemic inflammation and endothelial dysfunction in healthy male subjects / T. Oshima [et al.] // *J. Am. Coll. Cardiol.* – 2005 Apr. – Vol. 45, N 8. – P. 1219–1222.
 50. Lack of association between Helicobacter pylori infection and extracardiac atherosclerosis in dyspeptic elderly subjects / A. Pilotto [et al.] // *Age Ageing.* – 1999 Jul. – Vol. 28, N 4. – P. 367–371.
 51. High levels of cytomegalovirus antibody in patients requiring vascular surgery for atherosclerosis / E. Adam [et al.] // *Lancet.* – 1987 Aug. – Vol. 2, N 8554. – P. 291–293.
 52. Association between prior cytomegalovirus infection and the risk of restenosis after coronary atherectomy / Y. F. Zhou [et al.] // *N. Engl. J. Med.* – 1996 Aug. – Vol. 335, N 9. – P. 624–630.
 53. In situ detection of frequent and active infection of human cytomegalovirus in inflammatory abdominal aortic aneurysms: possible pathogenic role in sustained chronic inflammatory reaction / Y. Yonemitsu [et al.] // *Lab. Invest.* – 1996 Apr. – Vol. 74, N 4. – P. 723–736.
 54. Chlamydia pneumoniae, cytomegalovirus, and herpes simplex virus in atherosclerosis of the carotid artery / B. Chiu [et al.] // *Circulation.* – 1997 Oct. – Vol. 96, N 7. – P. 2144–2148.
 55. Detection of Cytomegalovirus in atherosclerotic plaques and nonatherosclerotic arteries / E. Xenaki [et al.] // *Angiology.* – 2009 Aug-Sep. – Vol. 60, N 4. – P. 504–508.
 56. Associations of antibodies to chlamydia pneumoniae, Helicobacter pylori, and Cytomegalovirus with immune reactions to heat-shock protein 60 and carotid or femoral atherosclerosis / M. Mayr [et al.] // *Circulation.* – 2000 Aug. – Vol. 102, N 8. – P. 833–839.
 57. Cytomegalovirus/herpesvirus and carotid atherosclerosis: the ARIC Study / P. D. Sorlie [et al.] // *J. Med. Virol.* – 1994 Jan. – Vol. 42, N 1. – P. 33–37.
 58. Kotronias, D. Herpes Simplex Virus as a determinant risk factor for coronary artery atherosclerosis and myocardial infarction / D. Kotronias, N. Kapranos // *In. Vivo.* – 2005 Mar-Apr. – Vol. 19, N2. – P. 351–357.
 59. Prospective study of herpes simplex virus, cytomegalovirus, and the risk of future myocardial infarction and stroke / P. M. Ridker [et al.] // *Circulation.* – 1998 Dec. – Vol. 98, N 25. – P. 2796–2799.
 60. Association of Helicobacter pylori infection with elevated serum lipids / A. Laurila [et al.] // *Atherosclerosis.* – 1999 Jan. – Vol. 142, N 1. – P. 207–210.
 61. Cytomegalovirus infection, lipoprotein(a), and hypercoagulability: an atherogenic link? / F. J. Nieto [et al.] // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* – 1997 Sep. – Vol. 17, N 9. – P. 1780–1785.
 62. Froberg, M. K. Cytomegalovirus seropositivity and serum total cholesterol levels in young patients / M. K. Froberg, N. Seacotte, E. Dahlberg // *Ann. Clin. Lab. Sci.* – 2001 Apr. – Vol. 31, N 2. – P. 157–161.
 63. Predisposition to atherosclerosis by infections: role of endothelial dysfunction / A. Prasad [et al.] // *Circulation.* – 2002 Jul. – Vol. 106, N 2. – P. 184–190.
 64. Effects of total pathogen burden on coronary artery disease risk and C-reactive protein levels / J. Zhu [et al.] // *Am. J. Cardiol.* – 2000 Jan. – Vol. 85, N 2. – P. 140–146.
 65. Johnson, S. Distribution of Mycoplasma pneumoniae and Mycoplasma salivarium in the synovial fluid of arthritis patients / S. M. Johnson, F. Bruckner, D. Collins // *J. Clin. Microbiol.* – 2007 Mar. – Vol. 45, N 3. – P. 953–957.
 66. Identification of Mycoplasma fermentans in synovial fluid samples from arthritis patients with inflammatory disease / S. Johnson [et al.] // *J. Clin. Microbiol.* – 2000 Jan. – Vol. 38, N 1. – P. 90–93.
 67. Presence of bacterial DNA and bacterial peptidoglycans in joints of patients with rheumatoid arthritis and other arthritides / I. M. van der Heijden [et al.] // *Arthritis Rheum.* – 2000 Mar. – Vol. 43, N 3. – P. 593–598.
 68. Epstein-Barr virus infection in peripheral blood mononuclear cells, synovial fluid cells, and synovial membranes of patients with rheumatoid arthritis / S. Blaschke [et al.] // *J. Rheumatol.* – 2000 Apr. – Vol. 27, N 4. – P. 866–873.
 69. Incidence and clinical significance of parvovirus B19 infection in patients with rheumatoid arthritis / S. V. Kozireva [et al.] // *J. Rheumatol.* – 2008 Jul. – Vol. 35, N 7. – P. 1265–1270.
 70. Acute infections in children are accompanied by oxidative modification of LDL and decrease of HDL cholesterol, and are followed by thickening of carotid intima-media / P. Liuba [et al.] // *Eur. Heart J.* – 2003 Mar. – Vol. 24, N 6. – P. 515–521.
 71. Robertson, A.-K. L. T Cells in atherogenesis. For better or for worse / A.-K. L. Robertson, G. K. Hansson // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* – 2006 Sep. – Vol. 26, N 11. – P. 2421–2432.
 72. Choy, E. H. Cytokine pathways and joint inflammation in rheumatoid arthritis / E. H. Choy, G. S. Panayi // *N. Engl. J. Med.* – 2001 Mar. – Vol. 344, N 12. – P. 907–916.

Поступила 20.02.2020 г.

Принята в печать 01.06.2020 г.

References

1. Schattner A, Liang MH. The cardiovascular burden of lupus: a complex challenge. *Arch Intern Med.* 2003 Jul;163(13):1507-10. doi: 10.1001/archinte.163.13.1507
2. Wajed J, Ahmad Y, Durrington PN, Bruce IN. Prevention of cardiovascular disease in systemic lupus erythematosus – proposed guidelines for risk factor management. *Rheumatology (Oxford).* 2004 Jan;43(1):7-12. doi: 10.1093/rheumatology/keg436
3. Björnådal L, Yin L, Granath F, Klareskog L, Ekblom A. Cardiovascular disease a hazard despite improved prognosis in patients with systemic lupus erythematosus: results from a Swedish population based study 1964–95. *J Rheumatol.* 2004 Apr;31(4):713-9.
4. Manzi S, Meilahn EN, Rairie JE, Conte CG, Medsger TA Jr, Jansen-McWilliams L, et al. Age-specific incidence rates of myocardial infarction and angina in women with systemic lupus erythematosus: comparison with the Framingham Study. *Am J Epidemiol.* 1997 Mar;145(5):408-15. doi: 10.1093/oxfordjournals.aje.a009122
5. Cervera R, Khamashta MA, Font J, Sebastiani GD, Gil A, Lavilla P, et al. Morbidity and mortality in systemic lupus erythematosus during a 5 year period: a multicenter prospective study of 1000 patients. European Working Party on Systemic Lupus Erythematosus. *Medicine (Baltimore).* 1999 May;78(3):167-75. doi: 10.1097/00005792-199905000-00003
6. Jonsson H, Nived O, Surfelt G. Outcome in systemic lupus erythematosus: a prospective study of patients from a defined population. *Medicine (Baltimore).* 1989 May;68(3):141-50.
7. Roman MJ, Shanker BA, Davis A, Lockshin MD, Sammaritano L, Simantov R, Crow MK, et al. Prevalence and correlates of accelerated atherosclerosis in systemic lupus erythematosus. *N Engl J Med.* 2003 Dec;349(25):2399-406. doi: 10.1056/NEJMoa035471
8. Asanuma Y, Oeser A, Shintani AK, Turner E, Olsen N, Fazio S, Linton MF, et al. Premature coronary-artery atherosclerosis in systemic lupus erythematosus. *N Engl J Med.* 2003 Dec;349(25):2407-15.
9. Von Feldt JM, Scalzi LV, Cucchiara AJ, Morthala S, Kealey C, Flagg SD, et al. Homocysteine levels and disease duration independently correlate with coronary artery calcification in patients with systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.* 2006 Jul;54(7):2220-7. doi: 10.1002/art.21967
10. Shoenfeld Y, Gerli R, Doria A, Matsuura E, Cerinic MM, Ronda N, et al. Accelerated atherosclerosis in autoimmune rheumatic diseases. *Circulation.* 2005 Nov;112(21):3337-47. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.104.507996
11. Wick G, Romen M, Amberger A, Metzler B, Mayr M, Falkensammer G, et al. Atherosclerosis, autoimmunity, and vascular-associated lymphoid tissue. *FASEB J.* 1997 Nov;11(13):1199-207. doi: 10.1096/fasebj.11.13.9367355
12. de Leeuw K, Sanders JS, Stegeman C, Smit A, Kallenberg CG, Bijl M. Accelerated atherosclerosis in patients with Wegener's granulomatosis. *Ann Rheum Dis.* 2005 May;64(5):753-9. doi: 10.1136/ard.2004.029033
13. Han C, Robinson DW Jr, Hackett MV, Paramore LC, Fraeman KH, Bala MV. Cardiovascular disease and risk factors in patients with rheumatoid arthritis, psoriatic arthritis, and ankylosing spondylitis. *J Rheumatol.* 2006 Nov;33(11):2167-72.
14. Roman MJ, Salmon JE. Cardiovascular manifestations of rheumatologic diseases. *Circulation.* 2007;116(20):2346-55. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.106.678334
15. Gonzalez-Juanatey C, Llorca J, Amigo-Diaz E, Dierssen T, Martin J, Gonzalez-Gay MA. High prevalence of subclinical atherosclerosis in psoriatic arthritis patients without clinically evident cardiovascular disease or classic atherosclerosis risk factor. *Arthritis Rheum.* 2007 Aug;57(6):1074-80. doi: 10.1002/art.22884
16. Gonzalez-Juanatey C, Amigo-Diaz E, Miranda-Fillooy JA, Testa A, Revuelta J, Garcia-Porrua C, et al. Lack of echocardiographic and doppler abnormalities in psoriatic arthritis patients without clinically evident cardiovascular disease or classic atherosclerosis risk factors. *Semin Arthritis Rheum.* 2006 Apr;35(5):333-9. doi: 10.1016/j.semarthrit.2005.12.002
17. Gabriel SE. The epidemiology of rheumatoid arthritis. *Rheum Dis Clin North Am.* 2001 May;27(2):269-81. doi: 10.1016/s0889-857x(05)70201-5
18. Pincus T, Callahan LF. What is the natural history of rheumatoid arthritis. *Rheum Dis Clin North Am.* 1993 Feb;19(1):123-51.
19. Cobb S, Anderson F, Bauer W. Length of life and cause of death in rheumatoid arthritis. *N Engl J Med.* 1953 Oct;249(14):553-6.
20. Van Doornum S, McColl G, Wicks IP. Accelerated atherosclerosis: an extraarticular feature of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 2002 Apr;46(4):862-73. doi: 10.1002/art.10089
21. Kvien TK. Epidemiology and burden of illness of rheumatoid arthritis. *Pharmacoeconomics.* 2004;22(2 Suppl 1):1-12. doi: 10.2165/00019053-200422001-00002
22. Pincus T, Brooks RH, Callahan LF. Prediction of long-term mortality in patients with rheumatoid arthritis according to simple questionnaire and joints count measures. *Ann Intern Med.* 1994 Jan;120(1):26-34. doi: 10.7326/0003-4819-120-1-199401010-00005
23. del Rincón ID, Williams K, Stern MP, Freeman GL, Escalante A. High incidence of cardiovascular events in a rheumatoid arthritis cohort not explained by traditional cardiac risk factors. *Arthritis Rheum.* 2001 Dec;44(12):2737-45. doi: 10.1002/1529-0131(200112)44:12<2737::AID-ART460>3.0.CO;2-%23
24. Nasonov EL. The problem of atherothrombosis in rheumatology. *Vestn RAMN.* 2003;(7):6-10. (In Russ.)
25. Kitas GD, Erb N. Tackling ischemic heart disease in rheumatoid arthritis. *Rheumatology (Oxford).* 2003 May;42(5):607-13. doi: 10.1093/rheumatology/keg175
26. Hänsel S, Lässig G, Pistrosch F, Passauer J. Endothelial dysfunction in young patients with long-term rheumatoid arthritis and low disease activity. *Atherosclerosis.* 2003 Sep;170(1):177-80. doi: 10.1016/s0021-9150(03)00281-8
27. Solomon DH, Karlson EW, Rimm EB, Cannuscio CC, Mandl LA, Manson JE, et al. Cardiovascular morbidity and mortality in women diagnosed with rheumatoid arthritis. *Circulation.* 2003 Mar;107(9):1303-7. doi: 10.1161/01.cir.0000054612.26458.b2
28. Panoulas VF, Douglas KM, Milionis HJ, Stavropoulos-Kalinglou A, Nightingale P, Kita MD, et al. Prevalence and associations of hypertension and its control in patients with rheumatoid arthritis. *Rheumatology (Oxford).* 2007 Sep;46(9):1477-82. doi: 10.1093/rheumatology/kem169
29. Park YB, Lee SK, Lee WK, Suh CH, Lee CW, Lee CH, et al. Lipid profiles in untreated patients with rheumatoid arthritis. *J*

- Rheumatol. 1999 Aug;26(8):1701-4.
30. Silman AJ, Newman J, MacGregor AJ. Cigarette smoking increases the risk of rheumatoid arthritis. Results from a nationwide study of disease-discordant twins. *Arthritis Rheum.* 1996 May;39(5):732-5. doi: 10.1002/art.1780390504
 31. Geraldino-Pardilla L, Zartoshti A, Bag Ozbek A, Giles JT, Weinberg R, Kinkhabwala M, et al. Arterial Inflammation Detected with 18F-Fluoro-Deoxyglucose Positron Emission Tomography in Rheumatoid Arthritis. *Arthritis Rheumatol.* 2018 Jan;70(1):30-39. doi: 10.1002/art.40345
 32. Maradit-Kremers H, Nicola PJ, Crowson CS, Ballman KV, Gabriel SE. Cardiovascular death in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 2005 Mar;52(3):722-32. doi: 10.1002/art.20878
 33. Skeoch S, Bruce IN. Atherosclerosis in rheumatoid arthritis: is it all about inflammation. *Nat Rev Rheumatol.* 2015 Jul;11(7):390-400. doi: 10.1038/nrrheum.2015.40
 34. Kuo CC, Jackson LA, Campbell LA, Grayston JT. Chlamydia pneumoniae (TWAR). *Clin Microbiol Rev.* 1995 Oct;8(4):451-61.
 35. Balin BJ, Gérard HC, Arking EJ, Appelt DM, Branigan PJ, Abrams JT, et al. Identification and localization of Chlamydia pneumoniae in the Alzheimer's brain. *Med Microbiol Immunol.* 1998 Jun;187(1):23-42. doi: 10.1007/s004300050071
 36. Hahn DL, Dodge RW, Golubjatnikov R. Association of Chlamydia pneumoniae (strain TWAR) infection with wheezing, asthmatic bronchitis, and adult-onset asthma. *JAMA.* 1991 Jul;266(2):225-30.
 37. Blasi F, Legnani D, Lombardo VM, Negretto GG, Magliano E, Pozzoli R, et al. Chlamydia pneumoniae infection in acute exacerbations of COPD. *Eur Respir J.* 1993 Jan;6(1):19-22.
 38. Gaydos CA, Summersgill JT, Sahney NN, Ramirez JA, Quinn TC. Replication of Chlamydia pneumoniae in vitro in human macrophages, endothelial cells, and aortic artery smooth muscle cells. *Infect Immun.* 1996 May;64(5):1614-20.
 39. Kuo CC, Shor A, Campbell LA, Fukushi H, Patton DL, Grayston JT. Demonstration of Chlamydia pneumoniae in atherosclerotic lesions of coronary arteries. *J Infect Dis.* 1993 Apr;167(4):841-9.
 40. Jackson LA, Campbell LA, Kuo CC, Rodriguez DI, Lee A, Grayston JT. Isolation of Chlamydia pneumoniae from a carotid endarterectomy specimen. *J Infect Dis.* 1997 Jul;176(1):292-5. doi: 10.1086/517270
 41. Kol A, Sukhova GK, Lichtman AH, Libby P. Chlamydial heat shock protein 60 localizes in human atheroma and regulates macrophage tumor necrosis factor-alpha and matrix metalloproteinase expression. *Circulation.* 1998 Jul;98(4):300-7. doi: 10.1161/01.cir.98.4.300
 42. Boman J, Hammerschlag MR. Chlamydia pneumoniae and atherosclerosis: critical assessment of diagnostic methods and relevance to treatment studies. *Clin Microbiol Rev.* 2002 Jan;15(1):1-20. doi: 10.1128/cmr.15.1.1-20.2002
 43. Grayston JT, Kronmal RA, Jackson LA, Parisi AF, Muhlestein JB, Cohen JD, et al. Azithromycin for secondary prevention of coronary events. *N Engl J Med.* 2005 Apr;352(16):1637-45. doi: 10.1056/NEJMoa043526
 44. Cannon CP, Braunwald E, McCabe CH, Grayston JT, Muhlestein B, Giugliano RP, et al. Antibiotic treatment of Chlamydia pneumoniae after acute coronary syndrome. *N Engl J Med.* 2005 Apr;352(16):1646-54. doi: 10.1056/NEJMoa043528
 45. Higuchi ML, Sambiasi N, Palomino S, Gutierrez P, Demarchi LM, Aiello VD, et al. Detection of Mycoplasma pneumoniae and Chlamydia pneumoniae in ruptured atherosclerotic plaques. *Braz J Med Biol Res.* 2000 Sep;33(9):1023-6. doi: 10.1590/s0100-879x2000000900005
 46. Higuchi Mde L, Reis MM, Sambiasi NV, Palomino SA, Castelli JB, Gutierrez PS, et al. Co-infection with Mycoplasma pneumoniae and Chlamydia pneumoniae in ruptured plaques associated with acute myocardial infarction. *Arq Bras Cardiol.* 2003 Jul;81(1):12-22, 1-11. doi: 10.1590/s0066-782x2003000900001
 47. Weiss TW, Kvakana H, Kaun C, Prager M, Speidl WS, Zorn G, et al. No evidence for a direct role of Helicobacter pylori and Mycoplasma pneumoniae in carotid artery atherosclerosis. *J Clin Pathol.* 2006 Nov;59(11):1186-90. doi: 10.1136/jcp.2005.034314
 48. Mendall MA, Goggin PM, Molineaux N, Levy J, Toosy T, Strachan D, et al. Relation of Helicobacter pylori infection and coronary artery disease. *Br Heart J.* 1994 May;71(5):437-9. doi: 10.1136/hrt.71.5.437
 49. Oshima T, Ozono R, Yano Y, Oishi Y, Teragawa H, Higashi Y, et al. Association of Helicobacter pylori infection with systemic inflammation and endothelial dysfunction in healthy male subjects. *J Am Coll Cardiol.* 2005 Apr;45(8):1219-22. doi: 10.1016/j.jacc.2005.01.019
 50. Pilotto A, Rumor F, Franceschi M, Leandro G, Novello R, Soffiati G, et al. Lack of association between Helicobacter pylori infection and extracardiac atherosclerosis in dyspeptic elderly subjects. *Age Ageing.* 1999 Jul;28(4):367-71. doi: 10.1093/ageing/28.4.367
 51. Adam E, Melnick JL, Probstfeld JL, Petrie BL, Burek J, Bailey KR, et al. High levels of cytomegalovirus antibody in patients requiring vascular surgery for atherosclerosis. *Lancet.* 1987 Aug 8;2(8554):291-3. doi: 10.1016/s0140-6736(87)90888-9
 52. Zhou YF, Leon MB, Waclawiw MA, Popma JJ, Yu ZX, Finkel T, et al. Association between prior cytomegalovirus infection and the risk of restenosis after coronary atherectomy. *N Engl J Med.* 1996 Aug;335(9):624-30. doi: 10.1056/NEJM199608293350903
 53. Yonemitsu Y, Nakagawa K, Tanaka S, Mori R, Sugimachi K, Sueishi K. In situ detection of frequent and active infection of human cytomegalovirus in inflammatory abdominal aortic aneurysms: possible pathogenic role in sustained chronic inflammatory reaction. *Lab Invest.* 1996 Apr;74(4):723-36.
 54. Chiu B, Viira E, Tucker W, Fong IW. Chlamydia pneumoniae, cytomegalovirus, and herpes simplex virus in atherosclerosis of the carotid artery. *Circulation.* 1997 Oct;96(7):2144-8.
 55. Xenaki E, Hassoulas J, Apostolakis S, Sourvinos G, Spandidos DA. Detection of Cytomegalovirus in atherosclerotic plaques and nonatherosclerotic arteries. *Angiology.* 2009 Aug-Sep;60(4):504-8. doi: 10.1177/0003319708322390
 56. Mayr M, Kiechl S, Willeit J, Wick G, Xu Q. Associations of antibodies to chlamydia pneumoniae, Helicobacter pylori, and Cytomegalovirus with immune reactions to heat-shock protein 60 and carotid or femoral atherosclerosis. *Circulation.* 2000 Aug;102(8):833-9.
 57. Sorlie PD, Adam E, Melnick SL, Folsom A, Skelton T, Chambless LE, et al. Cytomegalovirus/herpesvirus and carotid atherosclerosis: the ARIC Study. *J Med Virol.* 1994 Jan;42(1):33-7. doi: 10.1002/jmv.1890420107
 58. Kotronias D, Kapranos N. Herpes Simplex Virus as a determinant risk factor for coronary artery atherosclerosis and myocardial infarction. *In Vivo.* 2005 Mar-Apr;19(2):351-7.

59. Ridker PM, Hennekens CH, Stampfer MJ, Wang F. Prospective study of herpes simplex virus, cytomegalovirus, and the risk of future myocardial infarction and stroke. *Circulation*. 1998 Dec;98(25):2796-9.
60. Laurila A, Bloigu A, Näyhä S, Hassi J, Leinonen M, Saikku P. Association of Helicobacter pylori infection with elevated serum lipids. *Atherosclerosis*. 1999 Jan;142(1):207-10. doi: 10.1016/s0021-9150(98)00194-4
61. Nieto FJ, Sorlie P, Comstock GW, Wu K, Adam E, Melnick JL, et al. Cytomegalovirus infection, lipoprotein(a), and hypercoagulability: an atherogenic link? *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1997 Sep;17(9):1780-5.
62. Froberg MK, Seacotte N, Dahlberg E. Cytomegalovirus seropositivity and serum total cholesterol levels in young patients. *Ann Clin Lab Sci*. 2001 Apr;31(2):157-61.
63. Prasad A, Zhu J, Halcox JP, Waclawiw MA, Epstein SE, Quyyumi AA. Predisposition to atherosclerosis by infections: role of endothelial dysfunction. *Circulation*. 2002 Jul;106(2):184-90. doi: 10.1161/01.cir.0000021125.83697.21
64. Zhu J, Quyyumi AA, Norman JE, Csako G, Waclawiw MA, Shearer GM, et al. Effects of total pathogen burden on coronary artery disease risk and C-reactive protein levels. *Am J Cardiol*. 2000 Jan;85(2):140-6. doi: 10.1016/s0002-9149(99)00653-0
65. Johnson S, Bruckner F, Collins D. Distribution of Mycoplasma pneumoniae and Mycoplasma salivarium in the synovial fluid of arthritis patients. *J Clin Microbiol*. 2007 Mar;45(3):953-7. doi: 10.1128/JCM.01973-06
66. Johnson S, Sidebottom D, Bruckner F, Collins D. Identification of Mycoplasma fermentans in synovial fluid samples from arthritis patients with inflammatory disease. *J Clin Microbiol*. 2000 Jan;38(1):90-3.
67. van der Heijden IM, Wilbrink B, Tchetverikov I, Schrijver IA, Schouls LM, Hazenberg MP, et al. Presence of bacterial DNA and bacterial peptidoglycans in joints of patients with rheumatoid arthritis and other arthritides. *Arthritis Rheum*. 2000 Mar;43(3):593-8.
68. Blaschke S, Schwarz G, Moneke D, Binder L, Müller G, Reuss-Borst M. Epstein-Barr virus infection in peripheral blood mononuclear cells, synovial fluid cells, and synovial membranes of patients with rheumatoid arthritis. *J Rheumatol*. 2000 Apr;27(4):866-73.
69. Kozireva SV, Zestkova JV, Mikazane HJ, Kadisa AL, Kakurina NA, Lejnicks AA, et al. Incidence and clinical significance of parvovirus B19 infection in patients with rheumatoid arthritis. *J Rheumatol*. 2008 Jul;35(7):1265-70.
70. Liuba P, Persson J, Luoma J, Ylä-Herttuala S, Pesonen E. Acute infections in children are accompanied by oxidative modification of LDL and decrease of HDL cholesterol, and are followed by thickening of carotid intima-media. *Eur Heart J*. 2003 Mar;24(6):515-21.
71. Robertson A-KL, Hansson GK. T Cells in atherogenesis. For better or for worse. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2006 Sep;26(11):2421-32. doi: 10.1161/01.ATV.0000245830.29764.84
72. Choy EH, Panayi GS. Cytokine pathways and joint inflammation in rheumatoid arthritis. *N Engl J Med*. 2001 Mar;344(12):907-16.

Submitted 20.02.2020

Accepted 01.06.2020

Сведения об авторах:

Пальгуйева А.Ю. – к.м.н., доцент кафедры внутренних болезней, Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет;

Литвяков А.М. – д.м.н., профессор, заведующий кафедрой внутренних болезней, Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет.

Information about authors:

Palhuyeva H.Y. – Candidate of Medical Sciences, associate professor of the Chair of Internal Medicine, Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University;

Litvyakov A.M. – Doctor of Medical Sciences, professor, head of the Chair of Internal Medicine, 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 внутренних болезней. E-mail: ambrosanna@gmail.com – Пальгуйева Анна Юрьевна.

Correspondence address: Republic of Belarus, 210009, Vitebsk, 27 Frunze ave., Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University, Chair of Chair of Internal Medicine. E-mail: ambrosanna@gmail.com – Hanna Y. Palhuyeva.

МЕТОДИКА ВОСПРОИЗВЕДЕНИЯ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ МЕТАСТАЗИРУЮЩЕЙ КРЫСИНОЙ ГЛИОМЫ C6 С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ФЛЮОРЕСЦЕНТНОГО КРАСИТЕЛЯ

ПАШИНСКАЯ Е.С., СЕМЕНОВ В.М., ПОБЯРЖИН В.В., КУБРАКОВ К.М.

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

Вестник ВГМУ. – 2020. – Том 19, №3. – С. 23-29.

THE REPRODUCTION TECHNIQUE OF EXPERIMENTAL METASTATIC RAT GLIOMA C6 WITH THE USE OF A FLUORESCENT DYE

PASHINSKAYA E.S., SEMENOV V.M., PABIARZHYN V.V., KUBRAKOV K.M.

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

Vestnik VGMU. 2020;19(3):23-29.

Резюме.

Цель – разработать методику воспроизведения экспериментальной метастазирующей крысиной глиомы C6 с использованием флюоресцентного красителя.

Опыт проводили на 10 самках крыс линии Wistar. Реализация цели достигалась за счет того, что культуру опухолевых клеток C6 суспензировали в питательной среде, затем к полученной суспензии добавляли флюоресцентный краситель CellBrite™ Orange Cytoplasmic Membrane Dye и помещали в инкубатор. После инкубирования суспензии опухолевых клеток C6 с флюоресцентным красителем CellBrite™ Orange Cytoplasmic Membrane Dye, ее доставали и отмывали три раза. Образовавшуюся суспензию окрашенных живых опухолевых клеток в концентрации 10×10^9 вводили подкожно в надключичную область. Затем животному ставили внутримышечную инъекцию метпрезона в течение 10 дней. Через 3 месяца на месте введения культуры окрашенных опухолевых клеток C6 фиксировали новообразование. Новообразование и внутренние органы крысы забирали для проведения оценки миграции окрашенных опухолевых клеток C6 с целью подтверждения процесса метастазирования с помощью конфокального микроскопа. Из биоптатов опухоли и органов готовили препараты для иммуногистохимического подтверждения глиомной специфичности путем определения маркеров GFAP, S-100.

Ключевые слова: глиома, метастазирование, флюоресцентный краситель, крыса.

Abstract.

The aim of this study is to develop a technique for reproducing experimental metastatic rat glioma C6 using a fluorescent dye.

The experiment was performed on 10 female Wistar rats. The goal was achieved by suspending a culture of C6 tumor cells in a culture medium, then adding a fluorescent CellBrite™ Orange Cytoplasmic Membrane Dye to the resulting suspension and placing it in an incubator. After incubating the C6 tumor cell suspension with CellBrite™ Orange Cytoplasmic Membrane Dye, it was removed and washed three times. The resulting suspension of colored living tumor cells in a concentration of 10×10^9 was injected subcutaneously into the supraclavicular region. The animal was then given an intramuscular injection of metpresone during 10 days. After 3 months at the site of introduction of colored tumor cells C6 culture neoplasm was fixed. The neoplasm and internal organs of the rat were taken to assess the migration of colored C6 tumor cells in order to confirm the metastasis process using a confocal microscope. Preparations from organ biopsies were prepared for immunohistochemical confirmation of gliomic specificity by determining GFAP and S-100 markers.

Key words: glioma, metastasis, fluorescent dye, rat.

Известно, что новообразования различного генеза возникают в процессе хаотичного деления клеток, сопровождающегося атипичным тканевым ростом с образованием опухолей [1-3]. Причиной такого процесса является воздействие факторов различного генеза [4, 5].

Показано, что в гетерологичных (злокачественных) опухолях нарушена органотипическая, гистотипическая и цитотипическая дифференцировка, что сопровождается их инфильтрирующим и быстрым ростом. Характеристикой злокачественных опухолей также является способность к метастазированию и рецидивированию. В процессе метастазирования атипичные клетки мигрируют по кровеносным и лимфатическим сосудам, серозным оболочкам и образуют метастазы. В метастазах опухоль чаще всего имеет аналогичное строение, что и основной узел. В них возникают некроз, кровоизлияние, а размеры могут превышать «материнскую» опухоль [6, 7].

Среди пациентов с онкологией злокачественные опухоли головного мозга составляют весомую долю. Глиальные опухоли встречаются в 20,8% случаев у мужчин и 13,6% у женщин. Наиболее часто среди глиом диагностируются опухоли больших полушарий мозга (70,4% случаев) [9]. «Излюбленная» локализация полушарных глиом – лобная доля (8,6%), височная доля (12,8%) и теменная доля (8,6%) [9-12].

Для разработки новых методов изучения механизмов канцерогенных процессов, контроля над процессом метастазирования и регрессии, подбора грамотных терапевтических подходов биологам и медикам необходимо иметь высоко воспроизводимые опухолевые модели. Одной из таких является крысиная глиома С6. На данный момент существует несколько доступных способов воспроизведения крысиной глиомы [13-16]. Но в них описано только локальное развитие опухоли *in situ*. Кроме того, считают, что именно для этой экспериментальной глиомы процесс метастазирования не характерен.

Цель работы – разработать методику воспроизведения экспериментальной метастазирующей крысиной глиомы С6 с использованием флуоресцентного красителя.

Материал и методы

В эксперименте использовали 10 самок крыс линии Wistar массой 180-200 г, которые до начала манипуляций проходили двухнедельный

карантин. Работа с животными осуществлялась в соответствии с требованиями биомедицинской этики.

Для воспроизведения экспериментальной метастазирующей глиомы с использованием флуоресцентного красителя культуру опухолевых клеток С6 суспензировали в питательной среде DMEM из расчета 10×10^9 опухолевых клеток в 1 мл среды при комнатной температуре. Затем к полученной суспензии добавляли 5 мкл флуоресцентного красителя CellBrite™ Orange Cytoplasmic Membrane Dye из расчета на 1 мл клеточной суспензии опухолевых клеток С6 и перемешивали. Выбор красителя обоснован тем, что этот флуоресцентный краситель живых клеток выдерживает фиксацию метанолом и пермеабиллизацию, позволяет быстро окрашивать плазматические мембраны, совместить окрашивание плазматических мембран с внутриклеточным окрашиванием с помощью антител. Выбранный краситель является аминореактивным веществом, аккумулирующимся в клеточной мембране. Окрашивание обладает высокой стабильностью, низкой токсичностью, краситель не переносится между клетками, что делает его пригодным для длительных исследований по маркировке и отслеживанию клеток.

Далее суспензию опухолевых клеток С6 помещали в инкубатор при температуре 37°C на 30 минут. После инкубирования суспензии опухолевых клеток С6 с флуоресцентным красителем CellBrite™ Orange Cytoplasmic Membrane Dye, ее отмывали путем центрифугирования при 1500 оборотов в минуту в течение 5 минут при температуре 37°C. Образовавшуюся надосадочную жидкость удаляли и повторяли процесс отмывки по схеме 3 раза. После последней отмывки надосадочную жидкость удаляли и проводили определение жизнеспособности культуры клеток С6 с применением трипанового синего. Для этого суспензию окрашенных опухолевых клеток С6 смешивали с 0,5% раствором трипанового синего в соотношении 1:1 и выполняли подсчет количества неокрашенных (жизнеспособных) клеток с помощью камеры Горяева [17]. Затем рассчитывали дозу введения окрашенной культуры клеток С6 в концентрации 10×10^9 клеток на крысу линии Wistar массой 180-200 граммов.

Затем готовили инъекцию метпрезона, используя порошок для приготовления раствора для инъекций (40 мг) из расчета 0,001 мл на 1 грамм веса животного.

Крысу, которой проводили инъекцию окра-

шенной культуры живых опухолевых клеток С6, фиксировали вручную. Голову крысы отводили в сторону, надключичную область освобождали от шерсти, смазывали дезинфицирующим раствором. С соблюдением правил асептики суспензию окрашенных живых опухолевых клеток в концентрации 10×10^9 вводили подкожно. Место инъекции плотно зажимали ватным тампоном, смоченным в дезсредстве, и удерживали.

Затем животному ставили внутримышечную предварительно подготовленную инъекцию метпрезона. Место прокола зажимали ватным тампоном, смоченным в дезсредстве, и удерживали.

Инъекции метпрезона проводили ежедневно в течение 10 дней после введения культуры окрашенных опухолевых клеток С6.

Через три месяца крысу умерщвляли под эфирным наркозом. На месте инъекции культуры окрашенных опухолевых клеток С6 фиксировали новообразование, которое забирали для получения гистологических срезов с помощью замораживающего микротомы [18].

Затем проводили остальную часть вскрытия крысы для забора таких органов, как головной мозг, легкие, печень, селезенка. Гистологические срезы изготавливали с помощью замораживающего микротомы [18].

Оценку миграции окрашенных опухолевых клеток С6 для подтверждения процесса метастазирования (визуализация контуров окрашенных клеток) в гистологических препаратах проводили с помощью лазерного сканирующего конфокального микроскопа «Leica TCS SPE» (Leica-microsystems, Германия), используя при этом аргоновый лазер для возбуждения флуоресценции в красной и зеленой областях спектра [19]. Место скопления опухолевых клеток (метастаз) выявляли с помощью лазера путем возбуждения флуоресценции с границами диапазона детекции 360–420 нм. Обработку информации осуществляли в программе LAS AF.

Подтверждение развития высокозлокачественной глиомы и ее метастазирования проводили иммуногистохимическим методом путем определения основных специфических глиомных маркеров GFAP, S-100 [4] в забранном материале системой визуализации 2-step plus Poly-HRP Anti Rabbit/Mouse IgG Detection System (with DAB Solution, Wuhan Elabscience Biotechnology Incorporated Company, Китай, E-IR-R213).

Подсчет окрашенных клеток проводили с использованием светового микроскопа Leica DM

2500 в непересекающихся полях зрения в 1000 клетках каждого среза. Характеристику экспрессии и оценку доли окрашенных клеток (Immune reactivity, IRS) давали по инструкции по применению «Иммуногистохимические методы исследования новообразований различного генеза» [18].

Статистическую обработку данных проводили с помощью программы Statistica 10 с применением критерия Манна–Уитни и считали статистически значимыми при $p \leq 0,05$.

Результаты

Через 3 месяца после введения окрашенных опухолевых клеток глиомы С6 нами выявлено, что опухоли развились в месте инъекции. По форме опухоли овальной формы, размер 2–3 см³, размещены в капсуле с хорошо развитой кровеносно-сосудистой системой. При разрезе новообразования были плотной, упругой консистенции, красного цвета (рис. 1, 2).

Гистологическая оценка показала: в срезах опухоли обнаружены полиморфные округлые клетки со слабобазофильным ядром и фигурами митозов. Межклеточное вещество было представлено нейропилем (рис. 3, 4). Гистологическое заключение: глиобластома (глиома).

Иммуногистохимический анализ выявил, что в биоптатах опухоли экспрессия GFAP составила 2+ (37,46%; 95% ДИ : 29,38–38,45; IRS=4), а S 100 - 1+ (15,63%; 95 % ДИ : 13,35–17,44; IRS=5).

Макроскопическое изучение остальных органов показало: легкие и печень увеличены в размерах, имеют спайки. На поверхности органов визуализируются множественные новообразования, выступающие за границы органов, размером от 0,3 до 1 см³. Зафиксированные нами новообразования были плотной консистенции, серо-розового цвета, округлой формы, наполнены жидкостью (рис. 5, 6).

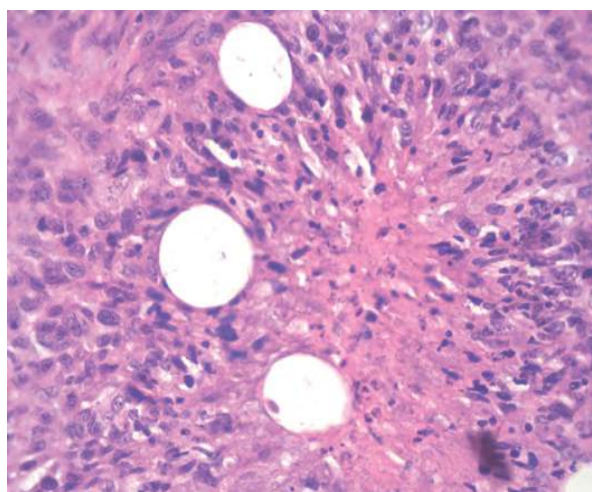
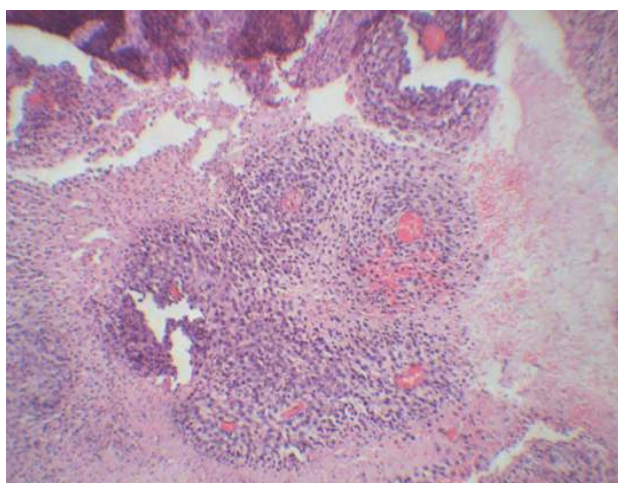
При оценке препаратов иммуногистохимическим методом нами выявлено, что в биоптатах легких экспрессия GFAP составила 1+(17,66%; 95% ДИ : 16,55–18,13; IRS=4), S 100 - 1+(14,56%; 95 % ДИ : 12,57–15,43; IRS=5). В срезах печени GFAP - 1+ (19,24%; 95 % ДИ : 17,10–20,44; IRS=5); S 100 - 1+(13,82%; 95% ДИ : 12,78–14,11; IRS=5).

Макроскопический осмотр селезенки показал, что она увеличена, зернистой структуры, цвет не изменен. Новообразований обнаружено не было.

В свою очередь, головной мозг животных был стандартных размеров, оболочки тонкие, на



Рисунки 1, 2 – Крысиная глиома С6 через 3 месяца после введения окрашенных опухолевых клеток.



Рисунки 3, 4 – Очаги некроза и кровоизлияния в опухолевой ткани, окруженные палисандром опухолевых клеток и кровеносными сосудами, окраска гематоксилин-эозином, x100, x400.

поверхности встречались темные вкрапления, напоминающие кровоизлияния. Плотность вещества мозга была обычная. При фронтальном разрезе мозга отчетливо выделялось серое и белое вещество. Желудочки мозга были без расширений.

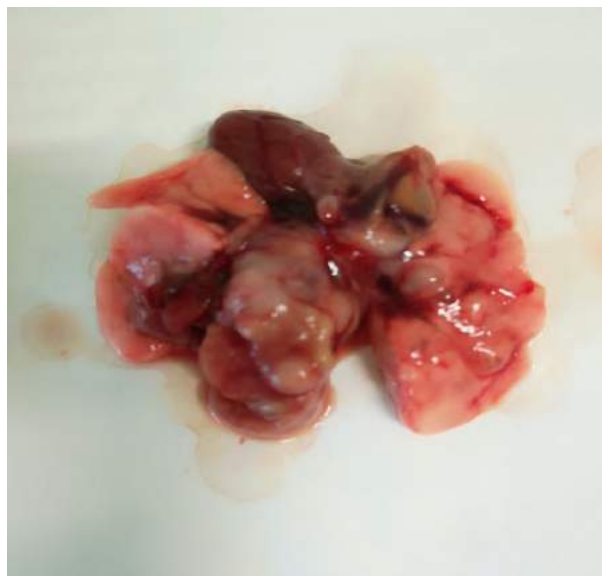
По результатам иммуногистохимического анализа экспрессии специфических маркеров GFAP и S 100 изменений в селезенке и головном мозге нами не выявлено.

В свою очередь, в препаратах биоптатов опухолей, легких и печени с помощью конфокальной микроскопии выявлены скопления светящихся окрашенных клеток (островки), которые располагались не организованно, беспорядочно и неравномерно, имели разную форму и интенсивность свечения. Островки клеток были разобщены между собой (рис. 7-9), а максимальный

уровень свечения в них окрашенных клеток был отмечен нами в срезах опухоли и легких.

Обсуждение

В настоящий момент биологическое моделирование опухолей головного мозга является востребованным [13-15, 20]. Ученые предлагают различные варианты получения опухолей, максимально приближенных к человеческим [16, 17, 20]. Известно, что глиобластомы развиваются *de novo* и характеризуются высокой скоростью роста, с преимущественной локализацией в полушариях головного мозга. Опухоль, имеющая астроцитарное происхождение, обладает диффузным ростом и может глубоко внедриться в здоровую ткань [9, 10, 21]. Однако в подавля-



Рисунки 5, 6 – Множественные новообразования, выступающие за границы легких и печени.

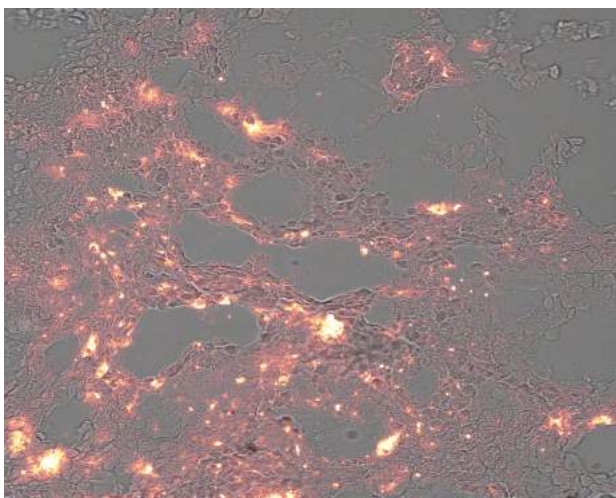


Рисунок 7 – Скопления светящихся окрашенных клеток в опухолевой ткани глиомы.



Рисунок 8 – Скопления светящихся окрашенных клеток в опухолевой ткани легких.

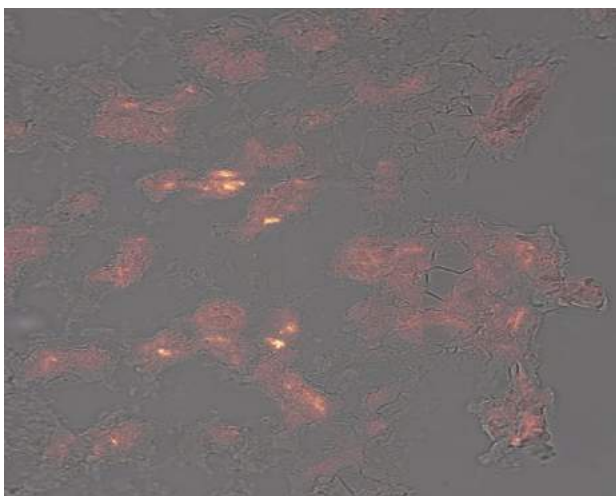


Рисунок 9 – Скопления светящихся окрашенных клеток в опухолевой ткани печени.

ющем большинстве случаев эта опухоль растет медленно, инфильтративно, границу опухоли и здоровых тканей не всегда удается найти даже при помощи микроскопа [9, 10, 21]. Процесс метастазирования глиобластом чаще всего остается неподтвержденным.

Представленная авторами модель не имеет аналогов на данный момент и прототипов и является воспроизводимой, экономически доступной.

Заключение

Разработанная нами модель воспроизведения экспериментальной метастазирующей крысиной глиомы С6 с использованием флюо-

ресцентного красителя может быть применена для проведения доклинических исследований на животных, разработки инновационных методов изучения молекулярно-генетических механизмов прогрессирования злокачественных глиальных новообразований и установления важных закономерностей их метастазирования с точки зрения общебиологического процесса. С помощью этой модели могут быть разработаны принципиально новые подходы к диагностике и клеточной терапии глиом высокой степени злокачественности.

Литература

1. Mapping the hallmarks of lung adenocarcinoma with massively parallel sequencing / M. Imielinski [et al.] // Cell. – 2012 Sep. – Vol. 150, N 6. – P. 1107–1120.
2. Intracerebral metastasis of glioblastoma multiforme. Case report and literature review / D. Jezewski [et al.] // Ann. Acad. Med. Stetin. – 2011. – Vol. 57, N 1. P. 59-63.
3. Clinical and molecular characteristics of NF1-mutant lung cancer / A. J. Redig [et al.] // Clin. Cancer Res. – 2016 Jul. – Vol. 22, N 13. – P. 3148–3156.
4. Global cancer statistics / A. Jemal [et al.] // CA. Cancer J. Clin. – 2011 Mar-Apr. – Vol. 61, N 2. – P. 69–90.
5. Juvenile myelomonocytic leukemia displays mutations in components of the RAS pathway and the PRC2 network / A. Caye [et al.] // Nat. Genet. – 2015 Nov. – Vol. 47, N 11. – P. 1334–1340.
6. Jankowska, M. Sexual functioning in young women in the context of breast cancer treatment / M. Jankowska // Rep. Pract. Oncol. Radiother. – 2013 May. – Vol. 18, N 4. – P. 193–200.
7. Морфологические и физиологические особенности раковых клеток у млекопитающих / В. В. Поляржин [и др.] // Вестн. ВГМУ. – 2016. – Т. 15, № 6. – С. 28–40.
8. Генные механизмы возникновения раковых опухолей / В. М. Семенов [и др.] // Здоровоохранение. – 2017. – № 7. – С. 38-47.
9. Колотов, К. А. Иммуногистохимические особенности глиальных опухолей головного мозга / К. А. Колотов, О. В. Машковцев, Б. Н. Бейн // Мед. альм. – 2012. – № 4. – С. 66-69.
10. Корниенко, В. Н. Опухоли головного мозга / В. Н. Корниенко // Вестн. РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН. – 2004. – Т. 15, № 1/2. – С. 23-30.
11. Albesiano, E. Mechanisms of local immunoresistance in glioma / E. Albesiano, J. E. Han, M. Lim // Neurosurg. Clin. N. Am. – 2010 Jan. – Vol. 21, N 1. – P. 17-29.
12. Altaner, C. Glioblastoma and stem cells / C. Altaner // Neoplasma. – 2008. – Vol. 55, N 5. – P. 369-374.
13. Халанский, А. С. Перевиваемый штамм глиомы крысы 101.8. I. Биологическая характеристика / А. С. Халанский, Л. И. Кондакова // Клини. и эксперим. морфология. – 2013. – № 4. – С. 63–68.
14. Халанский, А. С. Перевиваемый штамм глиомы крысы 101.8. II. Использование в качестве модели для экспериментальной терапии опухолей мозга / А. С. Халанский, Л. И. Кондакова, С. Э. Гельперина // Клини. и эксперим. морфология. – 2014. – № 1. – С. 50–59.
15. Barth, R. F. Rat brain tumor models in experimental neuro-oncology: the C6, 9L, T9, RG2, F98, BT4C, RT-2 and CNS-1 gliomas / R. F. Barth, B. Kaur // J. Neurooncol. – 2009 Sep. – Vol. 94, N 3. – P. 299–312.
16. Способ соно-фотодинамической терапии перевитой подкожно глиомы С6 у крысы : пат. 19417 Респ. Беларусь МПК А61N 5/067, А61N 7/00 / Истомин Ю. П., Александрова Е. Н., Чалов В. Н., Церковский Д. А. ; заявитель и патентообладатель Респ. науч.-практ. центр онкологии и мед. радиологии им. Н. Н. Александрова. – № а20120970 ; заявл. 27.06.12 ; опубл. 28.02.14, Афіц. бюл. № 4.
17. Черкасова, Е. И. Работа с культурами клеток : учеб.-метод. пособие / Е. И. Черкасова, А. А. Брилкина. – Нижний Новгород : Изд-во Нижегород. ун-та, 2015. – 57 с.
18. Иммуногистохимические методы исследования новообразований различного генеза : инструкция по применению № 160-1110 : утв. М-вом здравоохранения Респ. Беларусь 11.02.2011 г. / Э. А. Надыров [и др.]. – Гомель, 2011. – 20 с.
19. Сайфитдинова, А. Ф. Двумерная флуоресцентная микроскопия для анализа биологических образцов : учеб.-метод. пособие / А. Ф. Сайфитдинова. – Санкт-Петербург : Соло, 2008. – 68 с.
20. Экспериментальные модели мультиформной глиобластомы человека / Т. И. Хомякова [и др.] // Клини. и эксперим. морфология. – 2015. – № 1. – С. 60-69.
21. Метастазы глиобластом: ретроспективный анализ серии из шести клинических наблюдений / С. А. Горяинов [и др.] // Вопр. нейрохирургии им. Н. Н. Бурденко. – 2015. – Т. 79, № 2. – С. 33–43.

Поступила 01.04.2020 г.

Принята в печать 01.06.2020 г.

References

1. Imielinski M, Berger AH, Hammerman PS, Hernandez B, Pugh TJ, Hodis E, et al. Mapping the hallmarks of lung adenocarcinoma with massively parallel sequencing. Cell. 2012 Sep;150(6):1107-20. doi: 10.1016/j.cell.2012.08.029
2. Jezewski D, Parafiniuk D, Nowacki P, Kojder I. Intracerebral metastasis of glioblastoma multiforme. Case report and literature review. Ann Acad Med Stetin. 2011;57(1):59-63.
3. Redig AJ, Capelletti M, Dahlberg SE, Sholl LM, Mach S, Fontes C, et al. Clinical and molecular characteristics of NF1-mutant lung cancer. Clin Cancer Res. 2016 Jul;22(13):3148-56. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-15-2377
4. Jemal A, Bray F, Center MM, Ferlay J, Ward E, Forman D. Global cancer statistics. CA Cancer J Clin. 2011 Mar-Apr;61(2):69-90. doi: 10.3322/caac.20107
5. Caye A, Strullu M, Guidez F, Cassinat B, Gazal S, Fenneteau O, et al. Juvenile myelomonocytic leukemia displays mutations in components of the RAS pathway and the PRC2 network. Nat Genet. 2015 Nov;47(11):1334-40. doi: 10.1038/ng.3420
6. Jankowska M. Sexual functioning in young women in the context of breast cancer treatment. Rep Pract Oncol Radiother. 2013 May;18(4):193-200. doi: 10.1016/j.rpor.2013.04.032

7. Pashinskaya ES, Semenov VM, Dmitrachenko TI, Shlyakhtunov EA. Morphological and physiological characteristics of cancer cells in mammals. *Vestn VGMU*. 2016;15(6):28-40. (In Russ.)
8. Semenov VM, Pashinskaya ES, Pobyarzhin VV, Subbotina IA, Shlyakhtunov EA. Gene mechanisms of cancer. *Zdravookhranenie*. 2017;(7):38-47. (In Russ.)
9. Kolotov KA, Mashkovtsev OV, Beyn BN. Immunohistochemical features of glial brain tumors. *Med AI'm*. 2012;(4):66-9. (In Russ.)
10. Kornienko VN. Brain tumors. *Vestn RONTs im NN Blokhina RAMN*. 2004;15(1-2):23-30. (In Russ.)
11. Albesiano E, Han JE, Lim M. Mechanisms of local immunoresistance in glioma. *Neurosurg Clin N Am*. 2010 Jan;21(1):17-29. doi: 10.1016/j.nec.2009.08.008
12. Altaner C. Glioblastoma and stem cells. *Neoplasma*. 2008;55(5):369-74.
13. Khalanskiy AS, Kondakova LI. Transplantable strain of rat glioma 101.8. I. Biological Characterization. *Klin Eksperim Morfologiya*. 2013;(4):63-8. (In Russ.)
14. Khalanskiy AS, Kondakova LI, Gel'perina SE. Transplantable strain of rat glioma 101.8. II. Use as a model for experimental treatment of brain tumors. *Klin Eksperim Morfologiya*. 2014;(1):50-9. (In Russ.)
15. Barth RF, Kaur B. Rat brain tumor models in experimental neuro-oncology: the C6, 9L, T9, RG2, F98, BT4C, RT-2 and CNS-1 gliomas. *J Neurooncol*. 2009 Sep;94(3):299-312. doi: 10.1007/s11060-009-9875-7
16. Istomin YuP, Aleksandrova EN, Chalov VN, Tserkovskiy DA; zaiavitel' i patentoobladatel' Resp nauch-prakt tsentr onkologii i med radiologii im NN Aleksandrova. Method for sono-photodynamic therapy of rats subcutaneously implanted glioma C6 in rat: pat 19417 Resp Belarus' MPK A61N 5/067, A61N 7/00. № a20120970; zaiavl 27.06.12; opubl 28.02.14, Afits Biul № 4. (In Russ.)
17. Cherkasova EI, Brilkina AA. Work with cell cultures: ucheb-metod posobie. Nizhny Novgorod, RF: Izd-vo Nizhegorod un-ta; 2015. 57 p. (In Russ.)
18. Nadyrov EA, Rogov YuI, Dubrovskiy ACh, Voropaev EV, Achinovich SL, Krylov AYU, i dr. Immunohistochemical methods for the study of neoplasms of various genesis: instruktsiia po primeneniiu № 160-1110: utv M-vom zdravookhraneniia Resp Belarus' 11.02.2011 g. Gomel', RB; 2011. 20 p. (In Russ.)
19. Saifitdinova AF. Two-dimensional fluorescence microscopy for the analysis of biological samples: ucheb-metod posobie. Saint Petersburg, RF: Solo; 2008. 68 p. (In Russ.)
20. Khomyakova TI, Makarova OV, Khalanskiy AS, Fedoseeva VV, Mikhaylova LP, Khomyakov YuN. Experimental models of human glioblastoma multiforme. *Klin Eksperim Morfologiya*. 2015;(1):60-9. (In Russ.)
21. Goryaynov SA, Potapov AA, Ignatenko MA, Zhukov VYu, Protskiy SV, Zakharova NA, i dr. Glioblastoma metastases: a retrospective analysis of a series of six clinical observations. *Vopr Neurokhirurgii im NN Burdenko*. 2015;79(2):33-43. (In Russ.)

Submitted 01.04.2020

Accepted 01.06.2020

Сведения об авторах:

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

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

Побяржин В.В. – к.б.н., доцент, декан факультета подготовки иностранных граждан, Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет;

Кубраков К.М. – к.м.н., доцент кафедры неврологии и нейрохирургии, докторант кафедры инфекционных болезней с курсом ФПК и ПК, Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет.

Information about authors:

Pashinskaya E.S. – Candidate of Biological Sciences, associate professor, doctoral candidate of the Chair of Infectious Diseases with the course of the Faculty for Advanced Training & Retraining, Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University;

Semenov V.M. – Doctor of Medical Sciences, professor, head of the Chair of Infectious Diseases with the course of the Faculty for Advanced Training & Retraining, Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University.

Pobyarzhin V.V. – Candidate of Biological Sciences, associate professor, dean of the Overseas Students Training Faculty, Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University;

Kubrakov K.M. – Candidate of Medical Sciences, associate professor of the Chair of Neurology & Neurosurgery, doctoral candidate of the Chair of Infectious Diseases with the course of the Faculty for Advanced Training & Retraining, 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 инфекционных болезней с курсом ФПК и ПК. E-mail: paschinskaya.cat@yandex.ru – Пашинская Екатерина Сергеевна.

Correspondence address: Republic of Belarus, 210009, Vitebsk, 27 Frunze ave., Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University, Chair of Infectious Diseases with the course of the Faculty for Advanced Training & Retraining. E-mail: paschinskaya.cat@yandex.ru – Ekaterina S. Pashinskaya.

ЗАВИСИМАЯ ОТ iNOS МОДУЛЯЦИЯ ТОНУСА КОРОНАРНЫХ СОСУДОВ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ САХАРНОМ ДИАБЕТЕ, РАЗВИВАЮЩЕМСЯ НА ФОНЕ ПРЕДВАРИТЕЛЬНОЙ АДАПТАЦИИ

ЛАЗУКО С.С.

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

Вестник ВГМУ. – 2020. – Том 19, №3. – С. 30-40.

iNOS-DEPENDENT MODULATION OF THE CORONARY VESSELS TONE IN EXPERIMENTAL DIABETES MELLITUS DEVELOPING ON THE BACKGROUND OF PRELIMINARY ADAPTATION

LAZUKO S.S.

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

Vestnik VGMU. 2020;19(3):30-40.

Резюме.

Цель работы – оценить вклад индуцибельной NO-синтазы (iNOS) в механизмы поддержания тонуса коронарных сосудов и сократительной функции миокарда у крыс при экспериментальном сахарном диабете, развивающемся на фоне периодически воспроизводимых эпизодов иммобилизации.

Материал и методы. Тонус коронарных сосудов и сократительную функцию миокарда исследовали на препаратах сердец крыс, изолированных по методу Лангендорфа из организмов крыс, и перфузируемых в условиях постоянной объемной скорости коронарного потока (6, 8, 10 и 15 мл/мин) раствором Кребса-Хензелейта стандартного состава. Блокаду iNOS осуществляли S-метилизотиомочевинной (S-MT, 10^{-6} М). Адаптацию проводили посредством иммобилизации животных в вертикальном положении в пластиковом пенале, заполненном водой ($t=23\pm 2^\circ\text{C}$) до уровня шеи, в течение 8 суток. Сахарный диабет у крыс моделировали с помощью однократного внутривентрального введения стрептозоцина (50 мг/кг), разведенного в цитратном буфере (pH 4,5).

Концентрацию стабильных продуктов деградации NO ($\text{NO}_2^-/\text{NO}_3^-$), супероксиддисмутазы, каталазы, диеновых конъюгатов и малонового диальдегида в гомогенате левого желудочка определяли спектрофотометрическим методом. Содержание индуцибельной и эндотелиальной NO-синтаз (eNOS), интерлейкина 1β , C-реактивного белка в сыворотке крови экспериментальных животных определяли иммуноферментным методом.

Результаты. Сахарный диабет, воспроизводимый у крыс после предварительной адаптации короткими стрессорными воздействиями, не сопровождался изменениями коронарного перфузионного давления и развиваемого внутрижелудочкового давления. Добавление в перфузионный раствор S-MT приводило к повышению коронарного перфузионного давления, но не оказывало влияния на величины развиваемого внутрижелудочкового давления и скорость сокращения и расслабления миокарда (dP/dt). В группе «Адаптация+сахарный диабет» определялось увеличение концентрации iNOS, продуктов перекисного окисления липидов, на фоне снижения антиоксидантной активности и повышения содержания маркеров воспаления (ИЛ- 1β , C-реактивный белок) у экспериментальных животных.

Заключение. Сахарный диабет, воспроизводимый на фоне периодических эпизодов иммобилизации, сопровождается увеличением образования индуцибельной NO-синтазы, что в условиях дефицита eNOS, скорее всего, имеет приспособительное значение и необходимо для того, чтобы поддержать на должном уровне продукцию вазоактивного NO и предупредить возможную вазоконстрикцию, вызванную стойкой гипергликемией, активными формами кислорода и развивающимся системным воспалением.

Ключевые слова: индуцибельная NO-синтаза, сахарный диабет, адаптация короткими стрессорными воздействиями, тонус коронарных сосудов.

Abstract.

Objectives. To evaluate the contribution of inducible NO synthase (iNOS) to the mechanisms of maintaining coronary vascular tone and myocardial contractile function in rats with experimental diabetes mellitus, developing against the background of periodically reproduced episodes of immobilization.

Material and methods. Coronary vascular tone and myocardial contractile function were studied on preparations of rat hearts isolated by the Langendorff's method and perfused at constant volumetric coronary flow (6, 8, 10 and 15 ml/min) with a standard Krebs-Henseligh solution. The iNOS blockade was carried out by S-methylisothiourea (S-MT, 10^{-6} M). Adaptation was carried out by immobilization of animals in supine position in a plastic box filled with water ($t=23\pm 2^{\circ}\text{C}$) to the neck level during 8 days. Diabetes mellitus in rats was modelled by means of a single intraperitoneal injection of streptozocin (50 mg/kg) diluted in citrate buffer (pH 4.5).

The concentration of stable degradation products of NO ($\text{NO}_2^-/\text{NO}_3^-$), superoxide dismutase, catalase, diene conjugates and malondialdehyde in the left ventricular homogenate was determined by spectrophotometric method. The content of inducible and endothelial NO synthases (eNOS), interleukin 1β , C-reactive protein in the blood serum of experimental animals was determined by enzyme immunoassay.

Results. Diabetes mellitus, reproduced in rats after preliminary adaptation to short stressful effects, was not accompanied by changes in coronary perfusion pressure and developed intraventricular pressure. Introduction of S-MT to the perfusion solution led to an increase in coronary perfusion pressure, but did not affect the values of the developed intraventricular pressure and the rate of contraction and relaxation of the myocardium (dp/dt). In the «Adaptation + diabetes mellitus» group, an increase in the concentration of iNOS, lipid peroxidation products, was determined against the background of a decrease in antioxidant activity and an increase in the content of inflammatory markers (IL- 1β , C-reactive protein) in experimental animals.

Conclusions. Diabetes mellitus, reproduced against the background of periodic episodes of immobilization, is accompanied by an increase in the formation of inducible NO synthase, which under conditions of eNOS deficiency, most likely has adaptive value and is necessary in order to maintain adequate production of vasoactive NO and to prevent possible vasoconstriction caused by persistent hyperglycemia, active forms of oxygen and developing systemic inflammation.

Key words: *inducible NO synthase, diabetes mellitus, adaptation to short stress effects, coronary vascular tone.*

Экспертами Международной Федерации Диабета прогнозируется интенсивный рост заболеваемости сахарным диабетом. Ученые предполагают, что к 2040 году количество заболевших во всем мире достигнет критической отметки 642 млн. человек [1]. Сахарный диабет рассматривается как один из основных факторов риска развития сердечно-сосудистых заболеваний и является важной проблемой здравоохранения во всем мире [1]. Хроническая гипергликемия способствует развитию окислительного стресса, сосудистого воспаления, гиперпродукции NO, продуцируемого индуцибельной NO-синтазой (iNOS), активации перекисного окисления липидов (ПОЛ), причем эти механизмы являются важными звеньями патогенеза сосудистых осложнений сахарного диабета. Достаточно ранними проявлениями таких сосудистых осложнений является дисфункция эндотелия кровеносных сосудов и нарушение функциональной активности калиевых каналов, расположенных в гладкомышечных клетках сосудов [2, 3]. Следствиями диабетических макро- и микроангиопатий являются сосудистые «катастрофы» или поражения

органов мишеней, и поэтому изучение способов профилактики диабетических макро- и микроангиопатий с помощью медикаментозных и немедикаментозных способов коррекции является актуальным.

С этой целью в экспериментальных исследованиях чаще всего используют модели предварительной адаптации, например, с помощью периодически воспроизводимых эпизодов иммобилизации. Так, было показано, что адаптация короткими, не повреждающими воздействиями предупреждает: нарушения сосудистого тонуса и тяжелую гипотензию при остром экспериментальном инфаркте миокарда [4]; постстрессорные увеличение коронарного потока, снижение индекса ауторегуляции, сократительной функции миокарда и эффективность коронарной перфузии у крыс [5]; постстрессорное снижение функциональной активности калиевых каналов, расположенных в гладкомышечных клетках коронарных сосудов [6]. Хорошо изучена роль эндотелиальной NO-синтазы при адаптации периодически воспроизводимыми эпизодами иммобилизации. Основными механизмами такой адаптации явля-

ются ограничение активации перекисного окисления липидов мембран [7] и ограничение гиперпродукции NO, продуцируемого eNOS, а также усиление его депонирования в эндотелии и гладкомышечных клетках кровеносных сосудов [8], увеличение образования белков теплового шока [9], сохранение функции калиевых каналов [6]. В то же время, вопрос об iNOS-зависимых механизмах регуляции тонуса сосудов сердца при стрептозоцин-индуцированном сахарном диабете, развивающемся на фоне предварительной адаптации короткими стрессорными воздействиями, не изучался.

Цель нашего исследования – оценить вклад индуцибельной NO-синтазы в механизмы поддержания тонуса коронарных сосудов и сократительной функции миокарда у крыс при экспериментальном сахарном диабете, развивающемся на фоне периодически воспроизводимых эпизодов иммобилизации.

Материал и методы

Исследование проводили на неимбредных белых крысах-самках (*Rattus Muridae*) массой 180-240 г, содержащихся в стандартных условиях вивария на обычном пищевом и водно-солевом режиме. Эксперименты на животных проводились в соответствии с требованиями Council for International Organizations of Medical Sciences CIOMS и International Council for Laboratory Animal Science (ICLAS) «International Guiding Principles for Biomedical Research Involving Animals» (Geneva, 1990). Протокол проведения экспериментов был утвержден Комиссией по биоэтике и гуманному обращению с лабораторными животными ВГМУ.

Из экспериментальных животных были сформированы 4 группы по 8 крыс в каждой: 1-ая – контрольная группа животных – «Контроль»; 2-ая – животные, адаптированные короткими стрессорными воздействиями, – «Адаптация»; 3-я группа животных с экспериментальным стрептозоцин-индуцированным сахарным диабетом – «Сахарный диабет»; 4 – ая группа животных с экспериментальным сахарным диабетом, развивающимся на фоне предварительной адаптации короткими стрессорными воздействиями, – «Адаптация + сахарный диабет».

Экспериментальные модели. Адаптацию периодически воспроизводимыми эпизодами иммобилизации проводили в течение 8 дней. Каж-

дое животное фиксировали в специальных пенах, погружая их в воду температурой 22-23°C до уровня шеи (методика описана ранее) [10]. Через сутки животным имитировали сахарный диабет путем внутрибрюшинного введения инъекции стрептозоцина в дозе 50 мг/кг массы животного (методика описана ранее) [11].

Эксперименты на изолированных по методу Лангендорфа сердцах. Изменения коронарного перфузионного давления при объемной скорости коронарного потока (ОСКП), составлявшей 6, 8, 10 и 15 мл/мин, а также развиваемое давление в левом желудочке, скоростные и силовые показатели работы миокарда изучали на изолированном сердце, используя методику Лангендорфа (методика описана ранее) [11].

Для изучения роли оксида азота, продуцируемого индуцибельной NO-синтазой (iNOS) в механизмах регуляции тонуса коронарных сосудов, в перфузионный раствор добавляли высокоселективный блокатор iNOS S-метилизотиомочевину (S-MT, 10⁻⁶M, Sigma, USA).

Концентрацию индуцибельной и эндотелиальной (eNOS) NO-синтаз, C-реактивного белка (СРБ) и интерлейкина 1β (ИЛ-1β) в сыворотке крови определяли с использованием диагностических наборов по прилагаемым к ним инструкциям.

Концентрацию продуктов деградации оксида азота (NO₂⁻/NO₃⁻), продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) (диеновые конъюгаты и малоновый диальдигид) и антиоксидантную активность (АОА) (супероксиддисмутаза и каталаза) определяли в гомогенатах левого желудочка по известным методикам, описанным ранее [12-14].

Статистическую обработку полученных результатов проводили с помощью стандартного пакета статистических программ «STATISTICA 10.0» и «MS Excel». Тип распределения определяли с помощью критерия Шапиро-Уилка. Достигнутый уровень значимости (p) при проверке гипотезы был меньше 0,05 (p<0,05). Полученное в ходе определения отклонение нулевой гипотезы указывало на то, что распределение отличалось от нормального. О достоверности различий между несвязанными выборками судили по критерию Манна-Уитни (U) и Уилкоксона (W). Величины количественных показателей в экспериментальных группах представляли в виде медианы (Me), интерквартильного интервала [25%; 75%]. Проверку статистических гипотез выполняли при критическом уровне значимости 5%.

Результаты

В группах животных со стрептозоцин-индуцированным сахарным диабетом и сахарным диабетом, развивающимся на фоне предварительной адаптации короткими стрессорными воздействиями, определялись изменения массы стресс-восприимчивых органов. Так, относительная масса надпочечников в группе животных «Сахарный диабет» и «Адаптация + сахарный диабет» увеличивалась на 70 и 20% (рис. 1А, Б)

соответственно, а селезенки – снижалась на 23 и 53%, соответственно (рис. 1 А, Б). В группе животных «Адаптация + сахарный диабет» относительная масса селезенки уменьшалась в меньшей степени, по сравнению с соответствующим показателем группы «Сахарный диабет» (рис 1Б). Относительная масса надпочечников у животных с сахарным диабетом, развивающимся на фоне адаптации к стрессу, увеличивалась в меньшей степени, чем в группе животных с экспериментальным сахарным диабетом (рис. 1А). Важно,

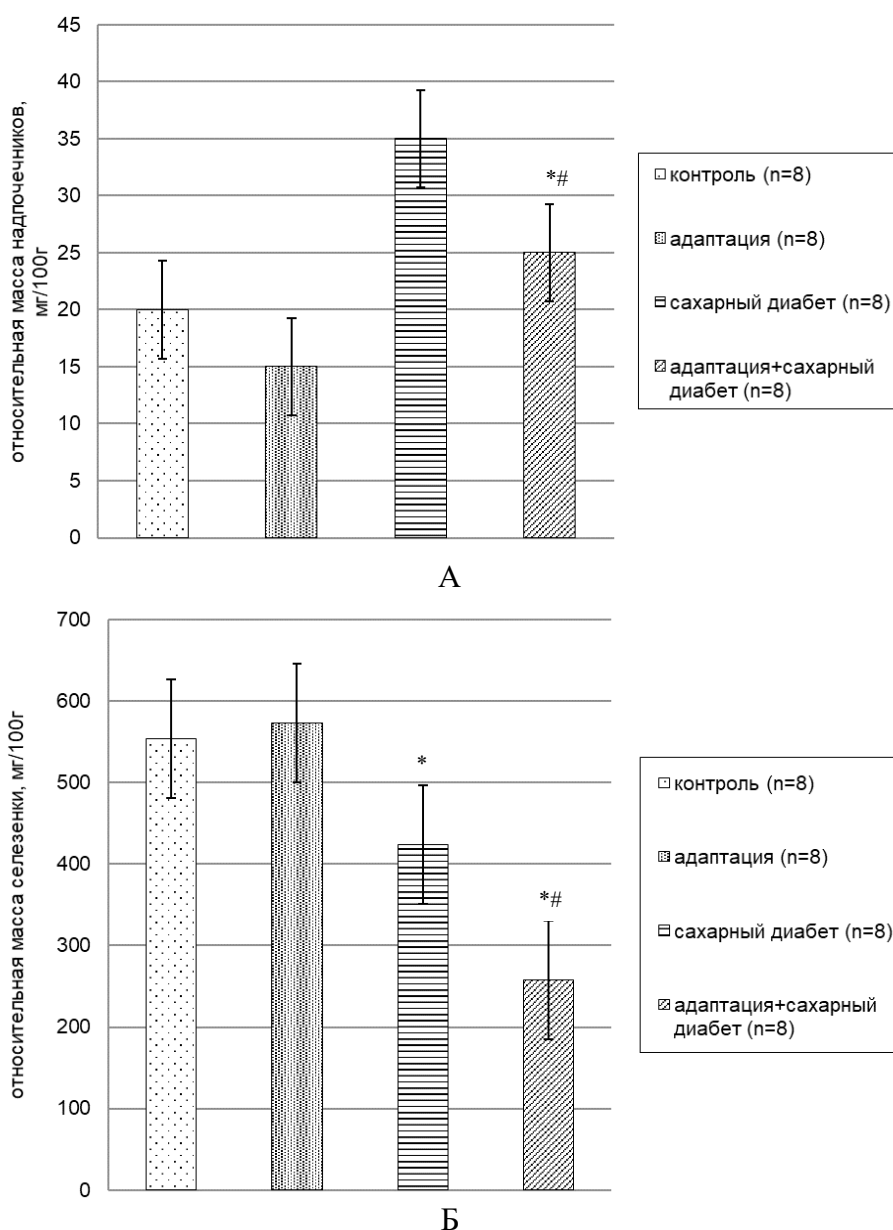


Рисунок 1 – Изменение относительной массы надпочечников (А) и селезенки (Б) после адаптации, стрептозоцин-индуцированного сахарного диабета и сахарного диабета, развивающегося на фоне предварительной адаптации к стрессу: * – $p < 0,05$ по сравнению с контролем; # – $p < 0,05$ – по сравнению с группой «Сахарный диабет».

что относительная масса надпочечников и селезенки в группах «Адаптация» и «Контроль» не различались (для сравнения в контроле относительная масса надпочечников – 20,79 мг на 100 г массы тела животного; относительная масса селезенки – 553,75мг на 100 г, рис. 1А, Б).

В крови животных групп «Адаптация + сахарный диабет» и «Сахарный диабет» отмечались повышение уровня глюкозы в крови (в группе контрольных животных уровень глюкозы составлял – 5,7±1,1 ммоль/л), а также глюкозурия и кетонурия. В группе контрольных животных концентрация гликированного гемоглобина составила 2,6%. Стрептозоцин-индуцированный сахарный диабет, воспроизведенный на фоне адаптации, сопровождался повышением содержания гликированного гемоглобина до 5% (сравнение с контролем, $p=0,003$) и не отличался от показателей гликированного гемоглобина группы «Сахарный диабет», который составлял 5,4%. В указанных группах выявлялось снижение массы тела крыс в одинаковой степени в среднем на 19% (масса тела животных до эксперимента составляла в среднем 185±5,3 грамма). Выживаемость животных с сахарным диабетом, воспроизведенным у крыс после предварительной адаптации к стрессу, составляла 100% (для сравнения, в группе животных только с экспериментальным сахарным диабетом выживаемость была равной 70%).

При экспериментальном сахарном диабете наблюдалось снижение коронарного перфузионного давления в среднем на 23% (рис. 2А) и развиваемого давления в левом желудочке в среднем на 26% ($p=0,0001$, сравнение с контролем), наряду со снижением скорости сокращения на 34% и расслабления левого желудочка в среднем на 29%, ($p=0,005$, сравнение с контролем) [11].

Подавление активности iNOS приводило к восстановлению величин КПД и развиваемого давления в левом желудочке до контрольных показателей в сердцах, изолированных из организмов крыс с сахарным диабетом (рис. 2Б). Однако в группе «Сахарный диабет» показатели скорости сокращения и расслабления миокарда все же оставались сниженными при всех уровнях ОСКП, по сравнению с контролем. Эти факты позволяют предположить, что одним из механизмов снижения тонуса сосудов сердца и его сократительной активности при экспериментальном сахарном диабете является значительное увеличение продукции оксида азота, продуцируемого iNOS.

Экспериментальный сахарный диабет сопровождался увеличением уровня диеновых конъюгатов и малонового диальдегида в миокарде левого желудочка, на фоне снижения активности антиоксидантной системы, увеличением концентрации продуктов деградации монооксида азота в гомогенате левого желудочка, увеличением концентрации индуцибельной и снижени-

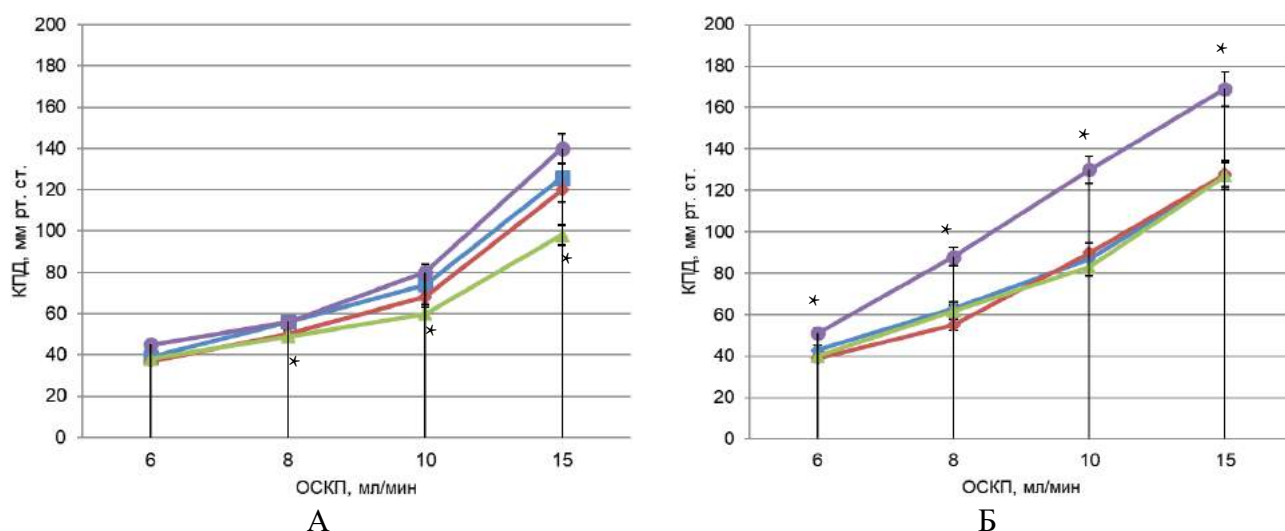


Рисунок 2 – Изменение коронарного перфузионного давления (КПД) после адаптации, стрептозоцин-индуцированного сахарного диабета и сахарного диабета, развивающегося на фоне предварительной адаптации (А); на фоне блокады индуцибельной NO-синтазы (Б).

По оси абсцисс – коронарное перфузионное давление в мм рт. ст., по оси ординат – объемная скорость коронарного потока (ОСКП) в мл/мин; * – $p<0,05$ по сравнению с контролем; ■ – группа «Контроль»;

▲ – «Сахарный диабет»; ◆ – «Адаптация»; ● – «Адаптация + сахарный диабет».

Таблица – Изменение концентрации индуцибельной (iNOS), эндотелиальной (eNOS) NO-синтаз, ИЛ-1 β , С-реактивного белка (СРБ) в сыворотке крови; NO₂⁻/NO₃⁻; продуктов перекисного окисления липидов (диеновые конъюгаты (ДК); малоновый диальдегид (МДА) и антиоксидантной активности (супероксиддисмутазы (СОД); каталазы (КАТ) в гомогенате миокарда экспериментальных животных

Группы	Концентрация eNOS, пг/мл в сыворотке крови	Концентрация iNOS, нг/мл в сыворотке крови	Концентрация NO ₂ ⁻ /NO ₃ ⁻ мкМ в миокарде	Концентрация ДК, нМ/г липидов в миокарде	Концентрация МДА, нМ/г белка в миокарде	Концентрация СОД с учетом коэф. разведения в 41 раз ЕД/г миокарда	Концентрация КАТ мкМ /г миокарда	Концентрация СРБ, мг/л в сыворотке крови	Концентрация ИЛ-1 β , пг/мл в сыворотке крови
Контроль (n=10)	47,20 (41,6;63,3)	2,66 (2,39;2,93)	24,30 (23,0;24,5)	100,44 (76,0;128,1)	77,66 (74,3;93,1)	70,27 (66,2;77,8)	68,12 (37,7;80,9)	0,21 (0,07;0,23)	-
Сахарный диабет (n=10)	12,50 (10,6;14,8) p ₁ =0,003	10,10 (7,2;12,6) p ₁ =0,0004	43,06 (39,3;54,9) p ₁ =0,002	199,00 (180,3;274,7) p ₁ =0,003	128,57 (118,3;258,3) p ₁ =0,004	34,59 (29,5;39,4) p ₁ =0,0001	29,86 (28,9;33,8) p ₁ =0,0007	0,34 (0,25;0,37) p ₁ =0,003	31,46 (28,35;33,23) p ₁ =0,002
Адаптация (n=8)	92,20 (29,1;151,1) p=0,005	3,50 (3,2;3,7)	29,30 (27,2;30,5) p=0,003	115,40 (111,9;126,0)	97,45 (83,0;99,6)	90,40 (76,8;94,7) p=0,0001	80,5 (50,5;91,6) p=0,002	0,05 (0,04;0,06)	-
Адаптация + сахарный диабет (n=8)	19,10 (13,5;22,3) p ₁ =0,001 p ₃ =0,0002	21,51 (19,7;24,2) p ₁ =0,007 p ₂ =0,002 p ₃ =0,0003	33,25 (31,02;36,54) p ₁ =0,004 p ₂ =0,0006 p ₃ =0,0001	140,11 (136,8;148,3) p ₁ =0,0001 p ₂ =0,0003 p ₃ =0,0002	264,01 (217,8;377,9) p ₁ =0,002 p ₂ =0,0001 p ₃ =0,007	33,65 (28,5;40,4) p ₁ =0,003 p ₃ =0,0002	28,86 (27,9;32,8) p ₁ =0,0007 p ₃ =0,005	0,38 (0,34;0,41) p ₁ =0,004 p ₃ =0,0003	27,83 (26,7;30,43) p ₁ =0,003 p ₃ =0,006

Примечание: p₁ – по сравнению с группой «Контроль»; p₂ – по сравнению с группой «Сахарный диабет»; p₃ – по сравнению с группой «Адаптация»; n – количество животных в группе.

ем концентрации эндотелиальной NO-синтазы в сыворотке крови, а также появлением признаков системного воспаления низкой интенсивности (увеличение содержания С-реактивного белка и ИЛ-1 β в сыворотке экспериментальных животных, табл. 1).

В миокарде левого желудочка крыс группы «Адаптация» обнаруживались увеличение концентрации конечных продуктов деградации NO, а в сыворотке крови этих животных – увеличение концентрации эндотелиальной NO-синтазы и повышение активности антиоксидантной системы (табл. 1). В сыворотке крови крыс группы «Адаптация» маркеры воспаления (интерлейкин 1 β , С-реактивный белок в крови крыс) не определялись. В этой же группе животных тонус сосудов сердца (рис. 2А) и величины развиваемого левым желудочком давления не изменялись. Ингибирование активности индуцибельной NO-синтазы в группах контрольных и адаптированных к стрессу животных не сопровождалось изменениями как тонуса коронарных сосудов (рис. 2Б), так и сократительной функции сердца.

Сахарный диабет, воспроизведенный у крыс после предварительной адаптации короткими стрессорными воздействиями, не сопровождался изменениями коронарного перфузионного давления (рис. 2А) и развиваемого внутрижелудочкового давления. Значения перфузионного давления при всех уровнях ОСКП, развиваемое внутрижелудочковое давление и скорость сокращения и расслабления миокарда были сопоставимы с контрольными показателями.

Подавление активности iNOS в сердцах, изолированных из организмов животных группы «Адаптация + сахарный диабет», приводило к повышению коронарного перфузионного давления при значениях ОСКП 6, 8, 10 и 15 мл/мин на 32, 44, 71 и 30%, соответственно (рис. 2Б). В то же время, блокада iNOS не оказывала влияния на величины развиваемого давления в левом желудочке и показатели скорости сокращения и расслабления миокарда. Этот факт указывает на модулирующий вклад iNOS в регуляцию тонуса сосудов сердца группы животных «Адаптация + сахарный диабет».

В сыворотке крови животных с сахарным диабетом, воспроизведенным у крыс после предварительной адаптации короткими стрессорными воздействиями, наблюдался увеличенный уровень NO $_2^-$ /NO $_3^-$ на 37% и повышенное содержание продуктов ПОЛ, по сравнению с показате-

лями контрольных крыс (табл. 1). Концентрация супероксиддисмутазы и каталазы достоверно снижалась на 51 и 57% соответственно (табл. 1). Содержание СРБ в сыворотке крови животных с сахарным диабетом, воспроизведенным после предварительной адаптации, возрастала, превышая контрольный показатель в 2 раза (табл. 1). В группе животных «Адаптация + сахарный диабет» наблюдалось 5-кратное увеличение концентрации ИЛ-1 β в сыворотке крови, по сравнению с таковыми в контроле (табл. 1).

Обсуждение

Обнаруженное снижение миогенного тонуса коронарных сосудов и нарушение сократительной функции сердца в группе животных «Сахарный диабет» в значительной мере были обусловлены гиперпродукцией оксида азота индуцибельной NO-синтазой. Так, использование высокоселективного блокатора iNOS приводило к повышению ослабленного тонуса коронарных сосудов и увеличению сниженного внутрижелудочкового давления в группе животных «Сахарный диабет». Однако блокатор iNOS лишь частично восстанавливал скорость сокращения (+dP/dt) и расслабления (-dP/dt) миокарда. Продолжительная гипергликемия сопровождалась гиперпродукцией NO, продуцируемого iNOS, о чем свидетельствует существенное повышение концентрации продуктов деградации NO и увеличение концентрации iNOS в крови экспериментальных животных. Пусковым механизмом повышенного образования iNOS может быть как стойкая гипергликемия, так и обнаруженное увеличение концентрации маркеров воспаления низкой интенсивности – ИЛ-1 β и СРБ. Вероятно, в то же время повышается образование супероксидного радикала, о чем косвенно свидетельствует увеличение концентрации продуктов ПОЛ в миокарде животных группы «Сахарный диабет». Ранее Zhu M. и соавт. при инкубации культуры эндотелиоцитов, полученных из пупочной вены, в среде с высоким содержанием в ней глюкозы, доказали факт увеличения образования в этих клетках супероксидного радикала [15]. Высокие концентрации активных форм кислорода способны подавлять активность гена eNOS с последующим снижением содержания этого фермента в крови, что было обнаружено в нашем исследовании.

Адаптация короткими стрессорными воздействиями не оказывала влияния на тонус коронарных сосудов и сократительную функцию

миокарда как в условиях блокады iNOS, так и без нее. Ранее было показано, что адаптация периодически воспроизводимыми эпизодами иммобилизации сопровождалась увеличением активности iNOS и экспрессии гена, ответственного за синтез iNOS, но умеренным накоплением этого фермента в гладкомышечных клетках коронарных сосудов экспериментальных животных [10]. Этот факт был расценен нами как «подготовительный этап» сосудов сердца и миокарда к последующим неблагоприятным воздействиям, биологическая целесообразность которого заключается в ограничении возможной вазоконстрикции. Механизм регуляции образования iNOS в сосудах сердца крыс группы «Адаптация» представлен на рисунке 3.

При моделировании сахарного диабета на фоне предварительной адаптации короткими стрессорными воздействиями было установлено, что величины КПД и показатели РВД достоверно не отличались от таковых в контроле. Однако добавление в раствор для перфузии сердец, изолированных из организмов животных группы «Адаптация + сахарный диабет» высокоселективного блокатора iNOS S-метилизотиомочевины, сопро-

вождалось увеличением тонуса коронарных сосудов при всех уровнях ОСКП, что свидетельствует о повышении продукции NO, образуемого iNOS, в клетках сосудов сердца. При этом обращает на себя внимание то, что значительное увеличение концентрации iNOS и снижение концентрации eNOS в сыворотке крови крыс группы «Адаптация + сахарный диабет» не сопровождалось столь массивной гиперпродукцией NO, о чем косвенно свидетельствует существенно меньший прирост концентрации нитратов/нитритов в гомогенате левого желудочка крыс группы «Адаптация + сахарный диабет» (сравнение с группой «Сахарный диабет»). В условиях моделирования сахарного диабета, на фоне предварительной адаптации короткими стрессорными воздействиями, могло развиваться т.н. «разобщение» субъединиц eNOS. «Разобщение» eNOS могло быть вызвано высокими концентрациями активных форм кислорода, о значительном повышении образования которых косвенно свидетельствует достоверно высокое содержание ДК и МДА в миокарде крыс группы «Адаптация + сахарный диабет» (сравнение с группой «Контроль» и «Адаптация»). Важно,



Рисунок 3 – Предположительный механизм регуляции образования iNOS и механизм регуляции тонуса сосудов сердца при адаптации короткими стрессорными воздействиями. Адаптация короткими стрессорными воздействиями сопровождается увеличением концентрации продуктов деградации монооксида азота (NO), продуцируемого эндотелиальной NO-синтазой (eNOS). Характерное для начальных стадий адаптации образование активных форм кислорода (АФК) и умеренное образование в этих условиях супероксидного аниона ($O_2^{\cdot-}$) при участии ядерного фактора транскрипции (NF-kB) способны активировать ген индуцибельной NO-синтазы (iNOS). При этом увеличенная продукция NO по механизму отрицательной обратной связи ингибирует NF-kB [16], тем самым регулируя образование фермента iNOS. Кроме того, при умеренной продукции супероксидного радикала при участии ядерного фактора NF-kB активируются гены супероксиддисмутазы (СОД), циклооксигеназы-2 (ЦОГ-2), белков теплового шока (HSP70) и других продуктов, способных регулировать редокс-состояние клеток, тем самым изменяя фенотипические свойства клеток кровеносных сосудов и миокарда, способствуя кардио- и вазопротекции.

что, несмотря на повышение содержания iNOS в крови крыс «Адаптация + сахарный диабет», тонус коронарных сосудов не отличался от таковых в контроле. Кроме того, при сахарном диабете, развивающемся на фоне предшествующих периодических эпизодов иммобилизации, по-видимому, стимулируемая провоспалительными цитокинами активация гена iNOS в этих условиях сочеталась и с повышением образования вазоконстрикторов (эндотелина-1, ангиотензина II) в клетках сосудов сердца [17], а также с нарушением механизмов регуляции гомеостаза ионизированного кальция в сосудистых гладкомышечных клетках. Преобладание последних двух механизмов вполне способно привести к коронарному спазму. Поэтому становится очевидным важная роль монооксида азота, синтезируемого индуцибельной NO-синтазой, образование которой необходимо для поддержания на должном уровне продукции вазоактивного NO, обеспечить которую только эндотелиальная NO-синтаза в данных условиях

уже не способна. Предположительный механизм iNOS-зависимой регуляции тонуса сосудов сердца крыс группы «Адаптация + сахарный диабет» представлен на рисунке 4.

Заключение

Сахарный диабет, воспроизводимый на фоне периодических эпизодов иммобилизации, сопровождается увеличением образования индуцибельной NO-синтазы, что в условиях дефицита eNOS, скорее всего, имеет приспособительное значение и необходимо для того, чтобы поддержать на должном уровне продукцию вазоактивного NO и предупредить возможную вазоконстрикцию, вызванную стойкой гипергликемией, активными формами кислорода и развивающимся системным воспалением.

Финансирование: Исследование выполнено при поддержке ГПНИ, Беларусь, по заданию 1.2.49.

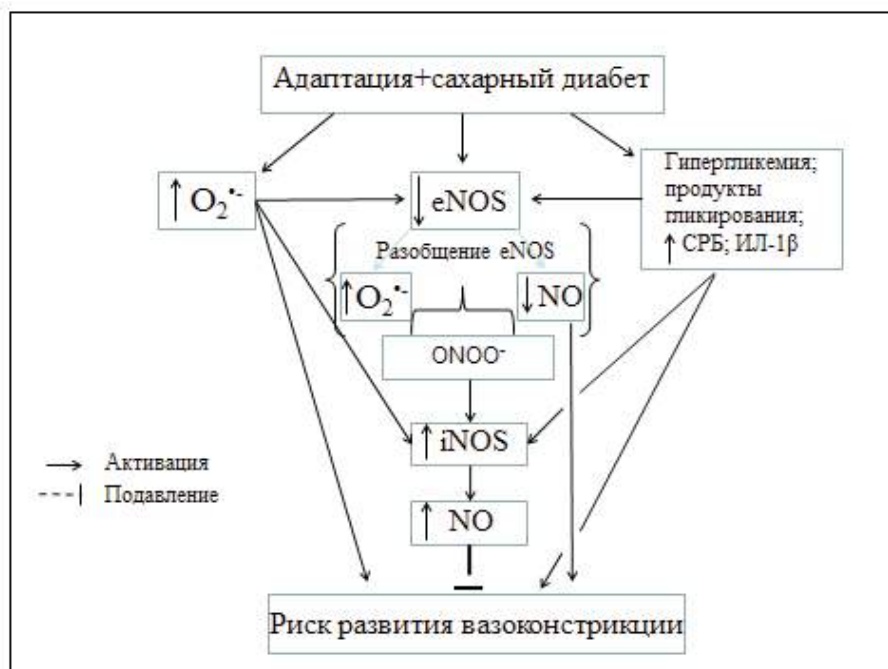


Рисунок 4 – Предположительный NO-зависимый механизм регуляции тонуса сосудов сердца при сахарном диабете, развивающемся на фоне предварительной адаптации короткими стрессорными воздействиями.

Экспериментальный сахарный диабет, развивающийся на фоне предварительной адаптации короткими стрессорными воздействиями, сопровождается стойкой гипергликемией, образованием продуктов гликирования, увеличенной концентрацией маркеров воспаления (интерлейкин-1β (ИЛ-1β), С-реактивный белок (СРБ)), активацией продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) и снижением концентрации монооксида азота (NO), продуцируемого эндотелиальной NO-синтазой (eNOS). «Разобщенная» eNOS, наряду с монооксидом азота, может продуцировать супероксидный радикал ($O_2^{\cdot-}$) или пероксинитрит ($ONOO^{\cdot-}$).

Перечисленные факторы стимулируют индуцибельную NO-синтазу (iNOS). Гиперпродукция NO, продуцируемого iNOS, способна ограничивать вазоконстрикцию, вызванную дефицитом NO, образуемого eNOS и образованием в эндотелиоцитах эндотелина-1.

Financing: *The research was conducted within the frames of task 1.2.49 of State Research Programs (GPNI) of the Republic of Belarus.*

Литература

1. Diabetes and cardiovascular disease / International Diabetes Federation. – Brussels, Belgium : International Diabetes Federation, 2016. – 14 p.
2. Downregulation of BK channel function and protein expression in coronary arteriolar smooth muscle cells of type 2 diabetic patients / T. Lu [et al.] // *Cardiovasc Res.* – 2019 Jan. – Vol. 115, N 1. – С. 145–153.
3. TRAF6 mediates high glucose-induced endothelial dysfunction / R. Liu [et al.] // *Exp. Cell. Res.* – 2018 Sep. – Vol. 370, N 2. – P. 490–497.
4. Meerson, F. Z. Adaptation to short-term stress prevents post-infarction hyperactivation of the endothelium and decrease in blood pressure in rats / F. Z. Meerson, E. B. Manukhina, A. V. Lapshin // *Biomed. Sci.* – 1991. – Vol. 2, N 6. – P. 623–628.
5. Божко, А. П. Предупреждение стрессорных изменений коронарного кровотока при помощи бета-блокатора обзидана, антиоксиданта ионола и адаптации животных к коротким стрессорным воздействиям / А. П. Божко, А. П. Солодков // *Изв. АН БССР. Сер. биол. наук.* – 1989. – № 5. – С. 611–617.
6. Солодков, А. П. Адаптация к коротким стрессорным воздействиям предупреждает постстрессорное нарушение функциональной активности кальцийактивируемых калиевых каналов коронарных сосудов / А. П. Солодков, С. С. Майорова, С. С. Лазуко // *Бюл. эксперим. биологии и медицины.* – 2010. – Т. 149, № 4. – С. 372–378.
7. Меерсон, Ф. З. Постстрессорная активация синтеза нуклеиновых кислот и белков и ее роль в адаптационных реакциях организма / Ф. З. Меерсон, В. И. Павлова, Г. Т. Сухих // *Патол. физиология и эксперим. терапия.* – 1982. – № 5. – С. 3–17.
8. Депо оксида азота (NO) и его адаптивная роль в сердечно-сосудистой системе / Е. Б. Манухина [и др.] // *Патогенез.* – 2012. – Т. 10, № 2. – С. 19–27.
9. Heat Shock Proteins: Protection and Potential Biomarkers for Ischemic Injury of Cardiomyocytes After Surgery / V. A. Santos-Junior [et al.] // *Braz. J. Cardiovasc. Surg.* – 2018 May-Jun. – Vol. 33, N 3. – P. 291–302.
10. Лазуко, С. С. Модулирующее влияние iNOS на функциональную активность КАТФ-каналов коронарных сосудов у крыс, адаптированных к стрессу / С. С. Лазуко, Л. Е. Беляева, Е. Б. Манухина // *Рос. физиол. журн. им. И. М. Сеченова.* – 2016. – Т. 102, № 7. – С. 864–875.
11. Лазуко, С. С. Особая роль индуцированной NO-синтазы в механизмах регуляции тонуса коронарных сосудов крыс при иммобилизационном стрессе, развивающемся на фоне сахарного диабета / С. С. Лазуко, Л. Е. Беляева, А. П. Солодков // *Рос. физиол. журн. им. И. М. Сеченова.* – 2014. – Т. 100, № 4. – С. 433–444.
12. Гаврилов, В. Б. Измерение дисневых конъюгатов в плазме по ультрафиолетовому поглощению гептановых и изопропиловых экстрактов / В. Б. Гаврилов, А. Р. Гаврилова, Н. Ф. Хмара // *Лаб. дело.* – 1988. – № 2. – С. 60–64.
13. Андреева, Л. И. Модификация метода определения перекисей липидов в тесте тиобарбитуровой кислоты / Л. И. Андреева, В. А. Кожемякин // *Лаб. дело.* – 1988. – № 1. – С. 41–43.
14. Стальной, М. Д. Метод определения малонового альдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты / М. Д. Стальной, Т. Г. Гаришвили // *Современные методы в биохимии / под ред. В. Н. Ореховича.* – Москва : Медицина, 1977. – С. 66–68.
15. Propofol protects against high glucose-induced endothelial dysfunction in human umbilical vein endothelial cells / M. Zhu [et al.] // *Anesth Analg.* – 2012 Feb. – Vol. 114, N 2. – P. 303–309.
16. Biphasic regulation of NF-κB activity underlies the pro- and anti-inflammatory actions of nitric oxide / L. Connelly [et al.] // *Immunol.* – 2001 Mar. – Vol. 166, N 6. – P. 3873–3881.
17. Schinzari, F. Increased endothelin-1-mediated vasoconstrictor tone in human obesity: effects of gut hormones / F. Schinzari, M. Tesaro, C. Cardillo // *Physiol. Res.* – 2018 Jun. – Vol. 67, suppl. 1. – P. S69–S81.

Поступила 25.03.2020 г.

Принята в печать 01.06.2020 г.

References

1. International Diabetes Federation. Diabetes and cardiovascular disease. Brussels, Belgium: International Diabetes Federation; 2016. 14 p.
2. Lu T, Chai Q, Jiao G, Wang X-L, Sun X, Furuseth JD, et al. Downregulation of BK channel function and protein expression in coronary arteriolar smooth muscle cells of type 2 diabetic patients. *Cardiovasc Res.* 2019 Jan1;115(1):145-153. doi: 10.1093/cvr/cvy137
3. Liu R, Shen H, Wang T, Ma J, Yuan M, Huang J, et al. TRAF6 mediates high glucose-induced endothelial dysfunction. *Exp Cell Res.* 2018 Sep;370(2):490-497. doi: 10.1016/j.yexcr.2018.07.014
4. Meerson FZ, Manukhina EB, Lapshin AV. Adaptation to short-term stress prevents post-infarction hyperactivation of the endothelium and decrease in blood pressure in rats. *Biomed Sci.* 1991;2(6):623-8.
5. Bozhko AP, Solodkov AP. Prevention of stress changes in coronary blood flow with the help of beta-blocker obzidan, ionol antioxidant and adaptation of animals to short stressful effects. *Izv AN BSSR Ser Biol Nauk.* 1989;(5):611-7. (In Russ.)
6. Solodkov AP, Mayorova SS, Lazuko SS. Adaptation to short stressful effects prevents post-stress disturbance of the functional activity of calcium-activated potassium channels of the coronary vessels. *Biul Eksperim Biologii Meditsiny.* 201;149(4):372-8. (In Russ.)
7. Meerson FZ, Pavlova VI, Sukhikh GT. Post-stress activation of the synthesis of nucleic acids and proteins and its role in the adaptive reactions of the body. *Patol Fiziologii Eksperim Terapii.* 1982;(5):3-17. (In Russ.)

8. Манухина ЕБ, Дауни ГФ, Маллет РТ, Малышев ИЮ, Ванин АФ. Депо оксида азота (NO) и его адаптивная роль в сердечно-сосудистой системе. Патогенез Manukhina EB, Dauni GF, Mallet RT, Malyshev IYu, Vanin AF. Depot of nitric oxide (NO) and its adaptive role in the cardiovascular system. Patogenez. 2012;10(2):19-27. (In Russ.)
9. Santos-Junior VA, Lollo PCB, Cantero MA, Moura CS, Amaya-Farfan J, Morato PN. Heat Shock Proteins: Protection and Potential Biomarkers for Ischemic Injury of Cardiomyocytes After Surgery. Braz J Cardiovasc Surg. 2018 May-Jun;33(3):291-302. doi: 10.21470/1678-9741-2017-0169
10. Lazuko SS, Belyaeva LE, Manukhina EB. The modulating effect of iNOS on the functional activity of KATF channels of coronary vessels in rats adapted to stress. Ros Fiziol Zhurn im IM Sechenova. 2016;102(7):864-75. (In Russ.)
11. Lazuko SS, Belyaeva LE, Solodkov AP. A special role of induced NO synthase in the mechanisms of regulation of rat coronary vascular tone during immobilization stress developing against the background of diabetes mellitus. Ros Fiziol Zhurn im IM Sechenova. 2014;100(4):433-44. (In Russ.)
12. Gavrilov VB, Gavrilova AR, Khmara NF. Measurement of plasma diene conjugates by ultraviolet absorption of heptane and isopropyl extracts. Lab Delo. 1988;(2):60-4. (In Russ.)
13. Andreeva LI, Kozhemyakin VA. Modification of the method for determining lipid peroxides in the thiobarbituric acid test. Lab Delo. 1988;(1):41-3. (In Russ.)
14. Stal'noy MD, Garishvili TG. Method for determination of malonic aldehyde using thiobarbituric acid. V: Orekhovich VN, red. Sovremennyye metody v biokhimi. Moscow, RF: Meditsina; 1977. P. 66-8. (In Russ.)
15. Zhu M, Chen J, Tan Z, Wang J. Propofol protects against high glucose-induced endothelial dysfunction in human umbilical vein endothelial cells. Anesth Analg. 2012 Feb;114(2):303-9. doi: 10.1213/ANE.0b013e31823f0c42
16. Connelly L, Palacios-Callender M, Ameixa C, Moncada S, Hobbs A. Biphasic regulation of NF-kB activity underlies the pro- and anti-inflammatory actions of nitric oxid. Immunol. 2001 Mar;166(6):3873-81. doi: 10.4049/jimmunol.166.6.3873
17. Schinzari F, Tesaro M, Cardillo C. Increased endothelin-1-mediated vasoconstrictor tone in human obesity: effects of gut hormones. Physiol Res. 2018 Jun;67(Suppl 1):S69-S81. doi: 10.33549/physiolres.933821

Submitted 25.03.2020

Accepted 01.06.2020

Сведения об авторах:

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

Information about authors:

Lazuko S.S. – Candidate of Biological Sciences, associate professor, head of the Chair of Normal Physiology, 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 нормальной физиологии. E-mail: Lazuko71@mail.ru – Лазуко Светлана Степановна.

Correspondence address: Republic of Belarus, 210009, Vitebsk, 27 Frunze ave., Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University, Chair of Normal Physiology. E-mail: Lazuko71@mail.ru – Svetlana S. Lazuko.

ПАТОМОРФОЛОГИЯ COVID-19 ПО ДАННЫМ 15 ВСКРЫТИЙ

САМСОНОВА И.В.¹, ЛЕСНИЧАЯ О.В.¹, МАЛАШЕНКО С.В.², КЛОПОВА В.А.¹,
ГОЛИПАД В.В.², МЛЯВЫЙ А.Н.²

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

²Витебское областное клиническое патологоанатомическое бюро, г. Витебск, Республика Беларусь

Вестник ВГМУ. – 2020. – Том 19, №3. – С. 41-49.

PATHOMORPHOLOGY OF COVID-19 ACCORDING TO THE DATA OF FIFTEEN AUTOPSIES

SAMSONOVA I.V.¹, LIASNICHAYA O.V.¹, MALASHENKA S.V.², KLOPAVA V.A.¹, GALIPAD V.V.², MLIAVY A.M.²

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

²Vitebsk Regional Clinical Pathoanatomical Bureau, Vitebsk, Republic of Belarus

Vestnik VGMU. 2020;19(3):41-49.

Резюме.

Цель работы – изучить морфологические изменения в организме пациентов, умерших от коронавирусной инфекции, и оценить патогенетическую роль поражения легких в развитии дыхательной недостаточности.

Материал и методы. Было проведено аутопсийное исследование 15 умерших в период с 16 марта по 15 апреля с диагностированным SARS-CoV-2. Аутопсийные образцы легких и других органов исследовали с помощью стандартных морфологических и иммуногистохимических методов.

Результаты. В легких 13 умерших были обнаружены характерные изменения аэрогематического барьера с повреждением альвеолярного эпителия, отеком, набуханием, расщеплением базальных мембран, интерстициальной воспалительной инфильтрацией. Характерным было наличие в большинстве случаев в альвеолах, альвеолярных ходах и бронхиолах ШИК-позитивных гиалиновых мембран. Просвет респираторных отделов легких содержал многоядерные гигантские эпителиальные клетки, десквамированные атипичные увеличенные альвеолоциты с крупными полиморфными ядрами, амфобильной зернистой цитоплазмой, хорошо определяемыми внутриядерными и/или внутрицитоплазматическими включениями, заметными ядрышками, скопления эритроцитов, местами выраженные, альвеолярные макрофаги, отечную жидкость, фибрин. Иммуногистохимическое исследование маркера пролиферации Ki-67 и кластера дифференцировки CD 34 продемонстрировало повышение их экспрессии.

Заключение. Надо полагать, выявленные изменения в легких являются следствием вирусной и лейкоцитарной агрессии и лежат в основе дальнейшего прогрессирования заболевания и его осложнений.

Ключевые слова: SARS-CoV-2, аутопсия, патоморфология COVID-19, иммуногистохимия, Ki-67, CD 34.

Abstract.

Objectives. To study the morphological changes in the organism of patients who died from coronavirus infection and to assess the pathogenetic role of the lung damage in the development of respiratory failure.

Material and methods. An autopsy study of 15 patients with diagnosed SARS-CoV-2, who died over a period of March, 16 – April, 15 was performed. Autopsy samples of the lungs and other organs were investigated by standard morphological and immunohistochemical methods.

In 13 lungs specimens characteristic changes in the airborne barrier with the damage of the alveolar epithelium, edema, swelling, cleavage of the basal membranes, and interstitial inflammatory infiltration were found. In most cases the PAS-positive hyaline membranes were observed in the alveoli, alveolar ducts and bronchioles. The lumen of the respiratory parts of the lungs contained multinucleated giant epithelial cells, desquamated atypical enlarged alveolocyttes with large polymorphic nuclei, amphophilic granular cytoplasm, well defined intranuclear and / or intracytoplasmic inclusions, prominent nucleoli, accumulations of red blood cells, locally marked, alveolar macrophages, transudate, fibrin. An

immunohistochemical study of Ki-67 and CD 34 markers demonstrated an increase in their expression. Conclusions. Presumably, the revealed changes are a consequence of viral and leukocyte aggression and are the basis for further progression of the disease and its complications.

Key words: SARS-CoV-2, autopsy, COVID-19 pathomorphology, immunohistochemistry, Ki-67, CD 34.

31 декабря 2019 года появились первые сведения о случаях возникновения пневмоний с неизвестной этиологией, которые были диагностированы у пациентов провинции Хубэй в г. Ухань Китайской Народной Республики. 9 января 2020 года было установлено, что возбудителем этих пневмоний является новый коронавирус SARS-CoV-2, филогенетически принадлежащий группе SARS-CoV, и острое респираторное вирусное заболевание, которое им вызывается, получило название «коронавирусная болезнь 2019 года» или «COVID-19» (2019-nCoV) [1].

Эпидемия COVID-19 («Coronavirus disease 2019») уже вошла в историю как чрезвычайная ситуация международного значения. 11 марта 2020 года Всемирная организация здравоохранения объявила COVID-19 глобальной пандемией. Несмотря на то, что данный вирус является менее патогенным, нежели SARS-CoV, он уже унес много жизней и разрушил экономику многих стран [2]. На 05.05.2020 в мире, по данным ВОЗ, количество подтвержденных случаев коронавирусной инфекции составило 2203937, количество случаев летальных исходов – 148749. В Республике Беларусь коронавирус был впервые обнаружен у иностранного студента, который вернулся из Ирана 27 февраля, а первый случай коронавирусной инфекции в Витебске был зарегистрирован 1 марта у жительницы Витебска, вернувшейся из Северной Италии [3]. По данным Министерства Здравоохранения, с 18 апреля по 5 мая число инфицированных коронавирусом в Республике Беларусь увеличилось с 3282 до 17489 человек, а количество летальных исходов составило 103 [4].

Сегодня медицинской науке известны механизмы возникновения новых вирусов, изучены клинико-эпидемиологические особенности «птичьего» гриппа H5N1 (2007 г.), «свиного» гриппа A H1N1pdm (2009), тяжелого острого респираторного синдрома (SARS-nCoV, 2002 г.), крупнейшей вспышки болезни Эбола в Западной Африке (2014-2015 гг.), вспышки лихорадки Зика (2016 г.) [5].

С 2012 года зарегистрировано 2519 случаев коронавирусной инфекции, вызванной вирусом MERS-CoV, 866 из которых закончились леталь-

ным исходом. Все случаи заболевания географически ассоциированы с Аравийским полуостровом (82% случаев зарегистрированы в Саудовской Аравии). MERS-CoV продолжает циркулировать и вызывать новые случаи заболевания [6].

Одной из основных причин смерти пациентов с COVID-19 во всех странах является дыхательная недостаточность. Данные о длительности и напряженности иммунитета в отношении SARS-CoV-2 в настоящее время отсутствуют. Патогенез и патоморфология новой коронавирусной инфекции, в том числе поражения легких, также изучены недостаточно.

Цель нашего исследования – изучить морфологические изменения в организме пациентов, умерших от коронавирусной инфекции, и оценить патогенетическую роль поражения легких в развитии дыхательной недостаточности.

Материал и методы

Было проведено аутопсийное исследование 15 умерших в период с 16 марта по 15 апреля, у которых инфицирование SARS-CoV-2 было подтверждено методом ПЦР прижизненно и посмертно (в материале из обоих легких, бифуркации трахеи, оливы продолговатого мозга). Из аутопсийных образцов легких после фиксации в 10% растворе нейтрального забуферного формалина и стандартной гистологической проводки готовили серийные срезы, которые окрашивали общегистологическими методами, в том числе реактивом Шиффа, альциановой кислотой (ШИК-реакция), и иммуногистохимически с использованием моноклональных антител к Ki67 и к кластеру дифференцировки CD34.

Результаты и обсуждение

Аутопсийные исследования 15 пациентов, умерших в Витебске и Витебской области, с положительным результатом ПЦР-теста на SARS-CoV-2 (COVID-19), выполнялись на базе патологоанатомических отделений Витебского областного клинического патологоанатомическо-

го бюро в соответствии со статьей 32 закона Республики Беларусь О здравоохранении [7]. Средний возраст умерших (9 женщин и 6 мужчин) составил $63,4 \pm 8,9$ лет.

У всех пациентов имелась различного рода сопутствующая патология: сахарный диабет (в 6 случаях), ИБС (в 8 случаях), артериальная гипертензия (в 6 случаях), системная красная волчанка (в 1 случае), хроническая обструктивная болезнь легких с пневмосклерозом (в 3 случаях), бронхиальная астма (тяжелое течение) (в 1 случае), повторное нарушение мозгового кровообращения в вертебробазиллярном бассейне (в 1 случае), цирроз печени (в 1 случае), подагра с хронической почечной недостаточностью и гемодиализом (в 1 случае), ожирение (в 4 случаях), состояние после оперативного удаления опухоли головного мозга (120 дней после оперативного вмешательства) (в 1 случае). Причем у 11 пациентов имело место сочетание сопутствующей патологии (2 и более заболеваний).

Морфологические изменения в легких были схожими, за исключением двух случаев. Макроскопически листки плевры были гладкими, с инъецированными сосудами и кровоизлияниями, малинового цвета, местами алые («лакированные») (рис. 1). Слизистая оболочка гортани, трахеи и крупных бронхов серо-розовая, умеренно полнокровная, покрыта сероватого цвета слизью.

Во всех исследованных случаях поражение легких было двусторонним. Легкие на ощупь были неравномерно уплотнены во всех отделах, безвоздушные. Масса лёгких увеличена. На разрезах ткань легких была от темно-вишневого до серо-розового цвета, с признаками диффузного альвеолярного повреждения, острого бронхиолита, отёка и геморрагий интерстициальной ткани.

При надавливании с поверхности разреза легких в умеренном количестве стекала темная кровянистая и пенная жидкость. Кусочки легочной ткани из всех долей, за исключением 1-2 сегментов, тонули при погружении в формалин.

Микроскопически (рис. 2-6) во всех случаях альвеолярные перегородки были резко утолщены за счет отека и полнокровия, с явлениями стаза крови в сосудах. Во всех случаях имели место отек, набухание, расщепление базальных мембран аэрогематического барьера. Интерстициальные мононуклеарные воспалительные инфильтраты, в которых преобладали лимфоциты, определялись во всех случаях, но отличались степенью выраженности: от умеренной в межуточной ткани и до слабой в стенках сосудов.

Просвет респираторных отделов легких содержал многоядерные гигантские эпителиальные клетки, десквамированные атипичные увеличенные альвеолоциты с крупными полиморфными ядрами, амфотильной зернистой цитоплазмой, хорошо определяемыми внутриядерными и/или внутрицитоплазматическими включениями, заметными ядрышками. Характерным было наличие в большинстве случаев в альвеолах, альвеолярных ходах и бронхиолах ШИК-позитивных гиалиновых мембран, выстилающих их внутреннюю поверхность (рис. 7).

В просвете альвеол также, помимо десквамированных пластов уродливых альвеолоцитов, определялись скопления эритроцитов, местами выраженные, альвеолярные макрофаги, отечная вспененная жидкость, фибрин. Присутствовали дистелектазы и ателектазы. В стенках бронхов отмечался отек, полнокровие, дистрофические изменения эпителия слизистой оболочки с очаговой десквамацией. Клетки эпителия также имели



Рисунок 1 – Легкие увеличены, резко полнокровны, с субплевральными кровоизлияниями.

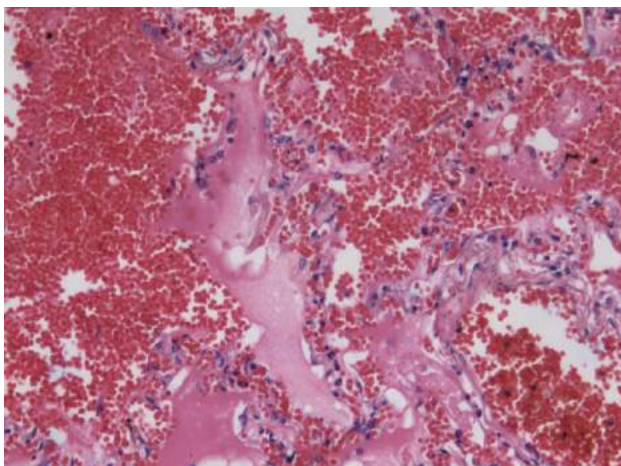


Рисунок 2 – Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение $\times 200$. Выраженное полнокровие альвеолярных перегородок. В просветах альвеол – скопление большого количества эритроцитов и отечной жидкости, десквамированные альвеолоциты.

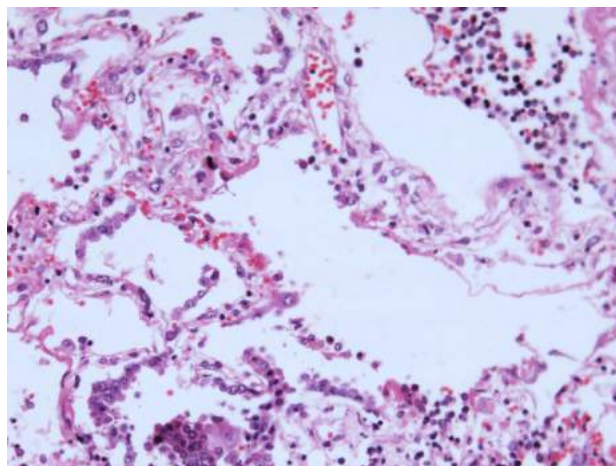


Рисунок 3 – Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение $\times 200$. Видны цепочки слущенных уродливых альвеолоцитов, полнокровие альвеолярных перегородок с лимфоидной инфильтрацией.

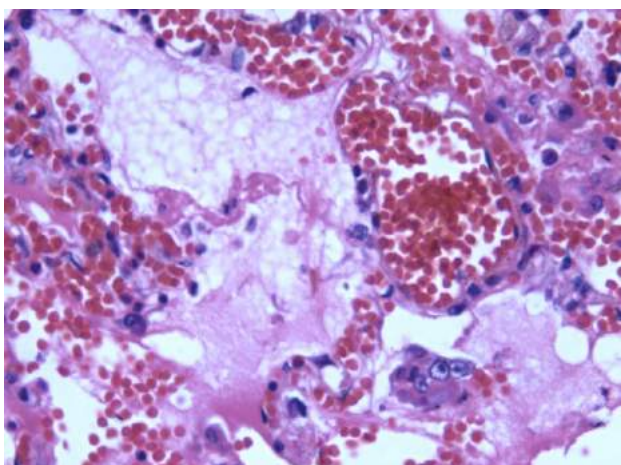


Рисунок 4 – Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение $\times 400$. В просвете альвеол – скопление экссудата. Эпителий слущен, альвеолоциты с увеличенными ядрами с рассеянным хроматином и ядрышками. В межтоточной ткани видна слабая инфильтрация лимфоцитами.

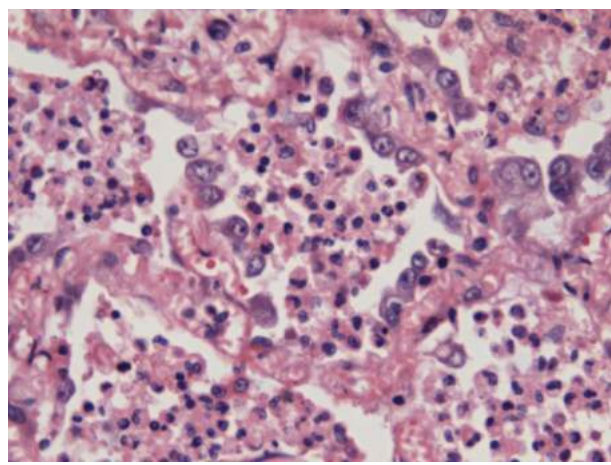


Рисунок 5 – Окраска гематоксилином и эозином, увеличение $\times 400$. Выраженное полнокровие альвеолярных перегородок, повреждение базальных мембран. В альвеолоцитах видны внутриядерные включения и выраженные ядрышки. В просвете альвеол – нейтрофилы, эритроциты, альвеолярные макрофаги, фибрин, десквамированные эпителиальные клетки.

увеличенные ядра с дисперсным хроматином и ядрышками.

В трех случаях пневмония имела признаки вторичной бактериальной инфекции, обусловленной *Klebsiella pneumoniae*, однако морфологические проявления цитопатического вирусного поражения также присутствовали. В этих случаях в полости альвеол присутствовали в большом количестве нейтрофилы и фибрин. Надо полагать, что в данных случаях поражение легочной ткани

было обусловлено иммуносупрессивным действием вируса и развитием оппортунистических бактериальных инфекций дыхательных путей.

В двух случаях аутопсий SARS-CoV-2-положительных пациентов признаков пневмонии, как и вышеописанных изменений, характерных для коронавирусного поражения легких, не было, однако отмечались хронический бронхит, диффузный пневмосклероз, отек и полнокровие легких.

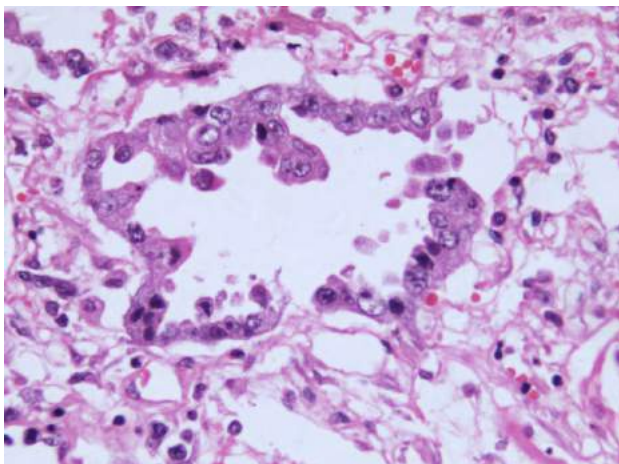


Рисунок 6 – Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение x400. Видны спущенные увеличенные альвеолоциты с крупными полиморфными ядрами, выстраивающиеся цепочкой вдоль внутренней поверхности альвеол. В альвеолоцитах определяются внутриядерные включения и выраженные ядрышки.

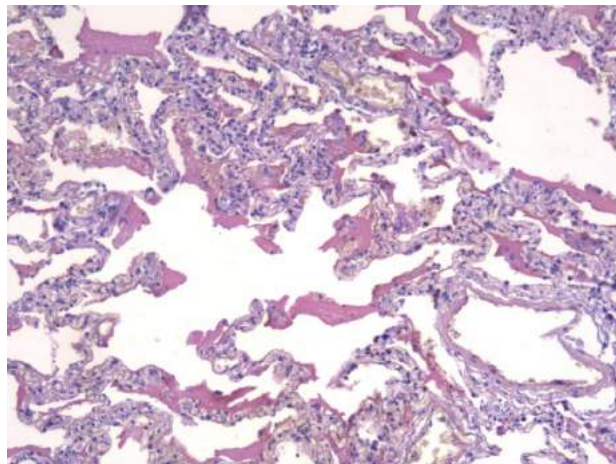


Рисунок 7 – ШИК-реакция с альциановым синим. Увеличение x100. Видны ШИК-положительные глиановые мембраны, выстилающие внутреннюю поверхность альвеол.

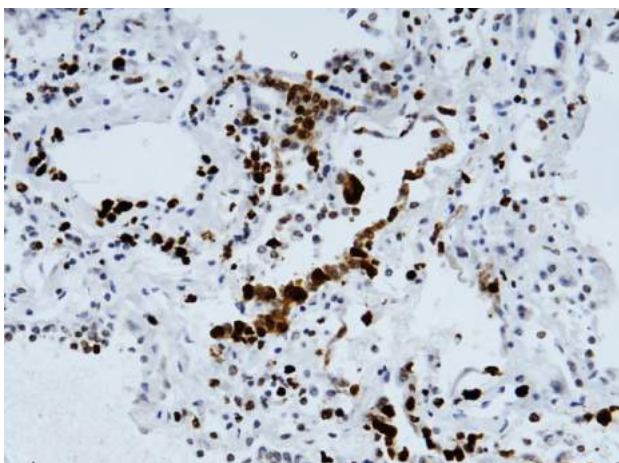


Рисунок 8 – Экспрессия Ki-67, иммунопероксидазная реакция, увеличение x200, x400. Положительная реакция отмечается в альвеолярном эпителии и стромальных элементах.

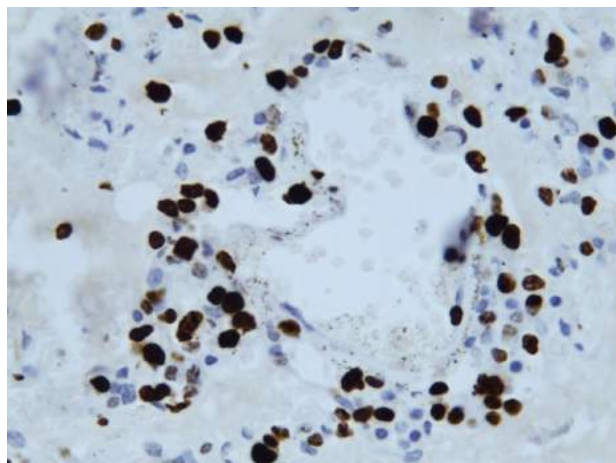


Рисунок 9 – Экспрессия Ki-67, иммунопероксидазная реакция, увеличение x400. Высокая пролиферативная активность стромальных элементов альвеолярных перегородок и периваскулярных пространств.

Иммуногистохимическое исследование маркера пролиферации Ki-67 показало высокую пролиферативную активность альвеолярного эпителия (рис. 8) и стромальных элементов альвеолярных перегородок и периваскулярных пространств (рис. 9). Известно, что Ki-67 выявляет пролиферирующие клетки, находящиеся на разных фазах цикла, и таким образом показывает весь пул делящихся клеток. Это наиболее надежный и четкий маркер пролиферации. Антиген Ki-67, выявляемый соответствующими моноклональными антителами, короткоживущий про-

теин, который разрушается в течение 1-1,5 часа. В силу этого Ki-67 выявляет только делящиеся клетки, так как не успевает накапливаться и не остается в покоящихся клетках [8, 9]. Надо полагать, выявленные изменения экспрессии Ki-67 в настоящем исследовании отражают активную реакцию легочной ткани на повреждение.

Иммуногистохимическое исследование CD34 в настоящем исследовании показало, что у всех пациентов степень его экспрессии повышалась в эндотелиальной выстилке капилляров в стенках респираторных отделов легких и более

крупных сосудов легочной ткани по сравнению с контрольной группой (рис. 10, 11). Поверхностный клеточный маркер CD34 – мембранный белок, молекула межклеточной адгезии – присутствует на поверхности стволовых гемопоэтических клеток и эндотелия кровеносных сосудов (за исключением синусоидов печени и селезенки). Он представляет собой гликопротеид с молекулярной массой около 110кДа. Проведенные многочисленные исследования показывают, что CD34 локализован на поверхности многих других клеток: клетках-предшественниках стромы костного мозга, опухолевых клетках миелоидного и лимфоидного происхождения, некоторых клетках нервной ткани, эндотелии некоторых лимфатических сосудов, дендритных клетках вокруг интерстициальных сосудов, нервов, волосяных фолликулов, фибробластах, фиброцитах и некоторых других. Известно также, что кластер дифференцировки CD34 – эндотелиальный маркер воспаления, являющийся лигандом для L-селектина нейтрофилов. Надо полагать, выявленные изменения экспрессии CD34 в легочной ткани при COVID являются следствием лейкоцитарной агрессии и лежат в основе дальнейшего прогрессирования заболевания и его осложнений.

При исследовании миокарда умерших помимо изменений, характерных для имевших в анамнезе артериальной гипертензии и ишемической болезни сердца, отмечался интерстициальный отек, мононуклеарная воспалительная инфильтрация (рис. 12).

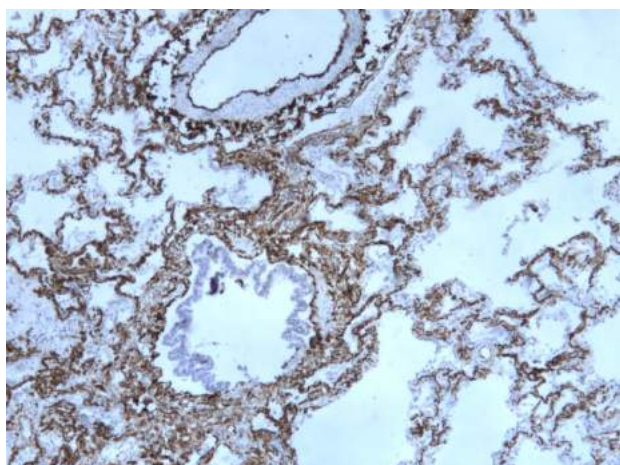


Рисунок 10 – Экспрессия CD34, иммунопероксидазная реакция, увеличение x200. Высокая экспрессия маркера в эндотелиальной выстилке капилляров в стенках респираторных отделов легких и более крупных сосудов легочной ткани.

В гистологических препаратах печени во всех случаях отмечался центрлобулярный, преимущественно микровезикулярный стеатоз, очаговая, от слабо до умеренно выраженной, преимущественно мононуклеарная инфильтрация вокруг портальных трактов (рис. 13).

В почках в 12 случаях из 15 отмечались признаки некротического нефроза. В одном из случаев некротические изменения проксимальных канальцев сочетались со скоплением серозного экссудата в экстракапиллярных пространствах; в 1 случае также присутствовали признаки острого поражения клубочков с полнокровием и необильной интракапиллярной лимфоцитарной инфильтрацией.

Известно, что основными клетками-мишенями для коронавирусов являются клетки альвеолярного эпителия, в цитоплазме которых происходит репликация вируса. После сборки вирионов они переходят в цитоплазматические вакуоли, которые мигрируют к мембране клетки и путем экзоцитоза выходят во внеклеточное пространство. Экспрессии антигенов вируса на поверхность клетки до выхода вирионов из клетки не происходит, поэтому антителообразование и синтез интерферонов стимулируются относительно поздно. Образование синцития под воздействием вируса обуславливает возможность последнего быстро распространяться в ткани [10].

Действие вируса вызывает повышение проницаемости клеточных мембран и усиленный транспорт жидкости, богатой альбумином, в ин-

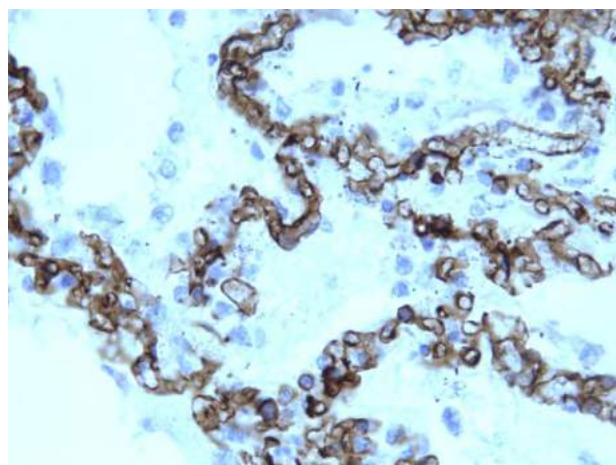


Рисунок 11 – Экспрессия CD34, иммунопероксидазная реакция, увеличение x400. Высокая экспрессия в эндотелиальной выстилке капилляров в стенках респираторных отделов легких и более крупных сосудов легочной ткани.

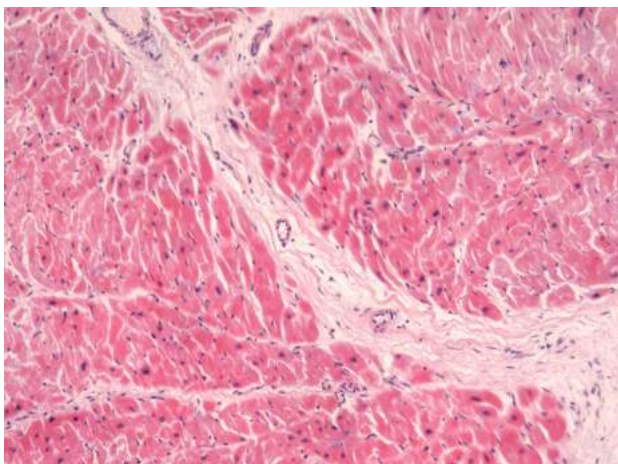


Рисунок 12 – Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение $\times 200$. В ткани сердца отмечается мелкоочаговый кардиосклероз, гипертрофия кардиомиоцитов и их ядер, интерстициальный отек.

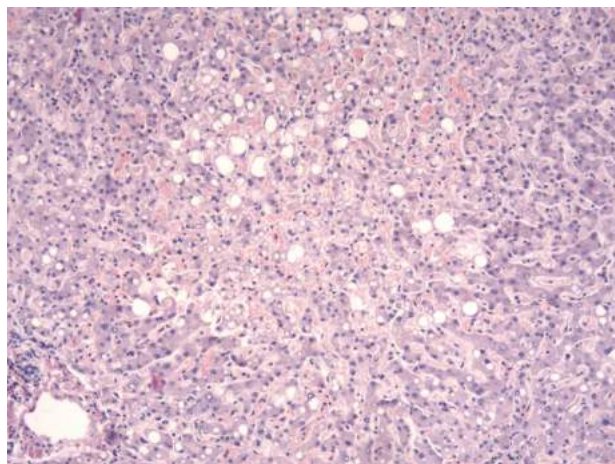


Рисунок 13 – Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение $\times 200$. В ткани печени отмечается выраженное полнокровие центра дольки и жировая дистрофия центролобулярных гепатоцитов.

терстициальную ткань лёгкого и просвет альвеол. При этом разрушается сурфактант, что ведёт к коллапсу альвеол, в результате резкого нарушения газообмена развивается острый респираторный дистресс-синдром.

Заключение

1. По данным аутопсийных исследований 15 умерших пациентов (средний возраст составил $63,4 \pm 8,9$ лет), у которых лабораторно методом ПЦР прижизненно и посмертно было подтверждено инфицирование SARS-CoV-2, у всех умерших имелись тяжелые сопутствующие заболевания, в том числе сердечно-сосудистой и дыхательной систем.

2. Ведущую роль в танатогенезе у большинства пациентов играло вирусное поражение легких, характерным морфологическим проявлением которого наряду с типичными признаками вирусного поражения было наличие в большинстве случаев в альвеолах, альвеолярных ходах и бронхиолах ШИК-позитивных гиалиновых мембран, выстилающих их внутреннюю поверхность.

3. У двух умерших пациентов с лабораторно подтвержденным SARS-CoV-2 отсутствовали признаки вирусного поражения легких (в том числе пневмонии), что позволяет расценивать не каждую смерть пациентов с положительным SARS-CoV-2 статусом как смерть от COVID-19.

4. Иммуногистохимическая реакция с антителами к Ki-67 показала высокую пролифератив-

ную активность альвеолярного эпителия и стромальных элементов альвеолярных перегородок и периваскулярных пространств при интерстициальной пневмонии, вызванной SARS-CoV-2.

5. Поражение легочной ткани при COVID-19 сопровождается повышением экспрессии CD34, что, надо полагать, является следствием лейкоцитарной агрессии и лежит в основе дальнейшего прогрессирования заболевания и его осложнений.

Литература

1. Novel coronavirus disease 2019 (COVID-2019) pandemic: increased transmission in the EU/EEA – sixth update. 12 March 2020 [Electronic resource] / European Centre for Disease Prevention and Control. – Stockholm, 2020. – Mode of access: <https://www.ecdc.europa.eu/sites/default/files/documents/RRA-sixth-update-Outbreak-of-novel-coronavirus-disease-2019-COVID-19.pdf>. – Date of access: 01.06.20.
2. SARS-CoV-2, SARS-CoV, and MERS-CoV: a comparative overview / A. A. Rabaan [et al.] // Infez. Med. – 2020 Jun. – Vol. 28, N 2. – С. 174–184.
3. [У белоруски из Витебска один из тестов на коронавирус дал положительный результат] [Электронный ресурс] // Министерство Здравоохранения Республики Беларусь : сайт. – Режим доступа: <http://minzdrav.gov.by/ru/sobytiya/minzdrav-respubliki-belarus-informiruet/>. – Дата доступа: 01.06.20.
4. [В Беларуси выздоровели и выписаны 2918 пациентов, у которых ранее был подтвержден диагноз COVID-1] [Электронный ресурс] // Министерство Здравоохранения Республики Беларусь : сайт. – Режим доступа: <http://minzdrav.gov.by/ru/sobytiya/v-belarusi-vyzdoroveli-i-vypisany-2918-patsientov/>. – Дата доступа: 01.06.20.
5. Middle East respiratory syndrome coronavirus (MERS-CoV) – Saudi Arabia [Electronic resource] / World Health

- Organization. – Mode of access: <https://www.who.int/csr/don/05-may-2020-mers-saudi-arabia/en/>. – Date of access: 01.06.20.
6. COVID-19 Autopsies, Oklahoma, USA [Electronic resource] / L. M. Barton [et al.] // *Am. J. Clin. Pathol.* – 2020 Jun. – Vol. 153, N 6. – P. 725–733. – Mode of access: <https://academic.oup.com/ajcp/advance-article/doi/10.1093/ajcp/aqaa062/5818922>. – Date of access: 01.06.20.
 7. О Здравоохранении : Закон Республики Беларусь, 18 июня 1993 г., № 2435-XII // *Pravo.by* [Электронный ресурс] : Нац. правовой интернет-портал Респ. Беларусь / Нац. центр правовой инф. Респ. Беларусь. – Режим доступа: <http://pravo.by/document/?guid=3871&p0=v19302435>. –
 - Дата доступа: 01.06.20.
 8. Scholzen, T. The Ki-67 protein: From the known and the unknown / T. Scholzen, J. Gerdes // *J. Cell. Physiol.* – 2000 Mar. – Vol. 182, N 3. – P. 311–322.
 9. Фролова, И. И. Клинико-морфологические исследования дискератозов шейки матки и цервикальных интраэпителиальных неоплазий / И. И. Фролова, И. И. Бабиченко // *Вестн. РУДН. Сер. Медицина.* – 2004. – № 1. – С. 79–86.
 10. Новая коронавирусная инфекция (COVID-19): этиология, эпидемиология, клиника, диагностика, лечение и профилактика : учеб.-метод. пособие / В. В. Никифоров [и др.]. – Москва, 2020. – 71 с.

Поступила 12.05.2020 г.

Принята в печать 01.06.2020 г.

References

1. European Centre for Disease Prevention and Control. Novel coronavirus disease 2019 (COVID-2019) pandemic: increased transmission in the EU/EEA – sixth update. 12 March 2020. Stockholm; 2020. Available from: <https://www.ecdc.europa.eu/sites/default/files/documents/RRA-sixth-update-Outbreak-of-novel-coronavirus-disease-2019-COVID-19.pdf> [Accessed 01th Jun 2020].
2. Rabaan AA, Al-Ahmed SH, Haque S, Sah R, Tiwari R, Malik Y, et al. SARS-CoV-2, SARS-CoV, and MERS-CoV: a comparative. *Infez Med.* 2020 Jun;28(2):174-184.
3. [In Belarus from Vitebsk, one of the tests for coronavirus gave a positive result] [Elektronnyi resurs]. V: Ministerstvo Zdravookhraneniia Respubliki Belarus': sait. Rezhim dostupa: <http://minzdrav.gov.by/ru/sobytiya/minzdrav-respubliki-belarus-informiruet/>. Data dostupa: 01.06.20. (In Russ.)
4. [2918 patients recovered and diagnosed with COVID-1 recovered in Belarus] [Elektronnyi resurs]. V: Ministerstvo Zdravookhraneniia Respubliki Belarus': sait. Rezhim dostupa: <http://minzdrav.gov.by/ru/sobytiya/v-belarusi-vyzdoroveli-i-vypisany-2918-patsientov/>. Data dostupa: 01.06.20. (In Russ.)
5. World Health Organization. Middle East respiratory syndrome coronavirus (MERS-CoV) – Saudi Arabia. Available from: <https://www.who.int/csr/don/05-may-2020-mers-saudi-arabia/en/> [Accessed 01th Jun 2020].
6. Barton LM, Duval EJ, Stroberg E, Ghosh S, Mukhopadhyay S. COVID-19 Autopsies, Oklahoma, USA. *Am J Clin Pathol.* 2020 Jun;153(6):725-33. Available from: <https://academic.oup.com/ajcp/advance-article/doi/10.1093/ajcp/aqaa062/5818922> [Accessed 01th Jun 2020].
7. About Health: Zakon Respubliki Belarus', 18 iyunia 1993 g., № 2435-XII. V: Nats tsentr pravovoi inf Resp Belarus'. *Pravo.by* [Elektronnyi resurs]: Nats pravovoi internet-portal Resp Belarus'. Rezhim dostupa: <http://pravo.by/document/?guid=3871&p0=v19302435>. Data dostupa: 01.06.20. (In Russ.)
8. Scholzen T, Gerdes J. The Ki-67 protein: From the known and the unknown. *J Cell Physiol.* 2000 Mar;182(3):311-22. doi: 10.1002/(SICI)1097-4652(200003)182:3<311::AID-JCP1>3.0.CO;2-9
9. Frolova II, Babichenko II. Clinical and morphological studies of cervical dyskeratosis and cervical intraepithelial neoplasia. *Vestn RUDN Ser Meditsina.* 2004;(1):79-86. (In Russ.)
10. Nikiforov VV, Kolobukhina LV, Smetanina SV, Mazankova LN, Plavunov NF, Shchel-kanov MYu, i dr. New coronavirus infection (COVID-19): etiology, epidemiology, clinic, diagnosis, treatment and prevention: *ucheb-metod posobie.* Moscow, RF; 2020. 71 p. (In Russ.)

Submitted 12.05.2020

Accepted 01.06.2020

Сведения об авторах:

Самсонова И.В. – к.м.н., доцент, заведующая кафедрой патологической анатомии с курсом судебной медицины, Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет;
Лесничая О.В. – к.м.н., доцент кафедры патологической анатомии с курсом судебной медицины, Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет;
Малашенко С.В. – к.м.н., доцент, начальник Витебского областного клинического патологоанатомического бюро;
Клопова В.А. – к.м.н., доцент кафедры патологической анатомии с курсом судебной медицины, Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет;
Голипад В.В. – заведующий отделом инфекционной патологии, Витебское областное клиническое патологоанатомическое бюро;
Млявый А.Н. – врач-патологоанатом, Витебское областное клиническое патологоанатомическое бюро.

Information about authors:

Samsonava I.V. – Candidate of Medical Sciences, associate professor, head of the Chair of Pathologic Anatomy with the course of Forensic Medicine, Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University;

Liasnichaya O.V. – Candidate of Medical Sciences, associate professor of the Chair of Pathologic Anatomy with the course of Forensic Medicine, Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University;

Malashenka S.V. – Candidate of Medical Sciences, associate professor, director of Vitebsk Regional Clinical Pathoanatomical Bureau;

Klopava V.A. – Candidate of Medical Sciences, associate professor of the Chair of Pathologic Anatomy with the course of Forensic Medicine, Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University;

Galipad V.V. – head of infections pathology department, Vitebsk Regional Clinical Pathoanatomical Bureau;

Mliavy A.M. – pathoanatomist, Vitebsk Regional Clinical Pathoanatomical Bureau;

Адрес для корреспонденции: Республика Беларусь, 210009, г. Витебск, пр. Фрунзе, 27, Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет, кафедра патологической анатомии с курсом судебной медицины. E-mail: samsonova_i@tut.by – Самсонова Инна Васильевна.

Correspondence address: Republic of Belarus, 210009, Vitebsk, 27 Frunze ave., Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University, Chair of Pathologic Anatomy with the course of Forensic Medicine. E-mail: samsonova_i@tut.by – Ina V. Samsonava.

ПОЛИМОРФИЗМЫ ГЕНОВ ТРАНСФОРМИРУЮЩЕГО РОСТОВОГО ФАКТОРА $\beta 1$ И МАТРИКСНОЙ МЕТАЛЛОПРОТЕИНАЗЫ 9 КАК МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ПРЕДИКТОРЫ ФОРМИРОВАНИЯ ИСТМИКО-ЦЕРВИКАЛЬНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ У ПАЦИЕНТОК С НЕДИФФЕРЕНЦИРОВАННОЙ ДИСПЛАЗИЕЙ СОЕДИНИТЕЛЬНОЙ ТКАНИ

КОНОНЕНКО И.С.

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

Вестник ВГМУ. – 2020. – Том 19, №3. – С. 50-58.

GENES POLYMORPHISMS OF TRANSFORMING GROWTH FACTOR $\beta 1$ AND MATRIX METALLOPROTEINASE 9 AS MOLECULAR AND GENETIC PREDICTORS OF ISTHMIC-CERVICAL INSUFFICIENCY DEVELOPMENT IN FEMALE PATIENTS WITH UNDIFFERENTIATED CONNECTIVE TISSUE DYSPLASIA

KONONENKO I.S.

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

Vestnik VGMU. 2020;19(3):50-58.

Резюме.

Учитывая высокую распространённость недифференцированной дисплазии соединительной ткани (НДСТ) среди женщин репродуктивного возраста (от 53% до 68,8%), представляется актуальным определение роли генетически детерминированного аномального метаболизма соединительной ткани на фоне НДСТ в генезе истмико-цервикальной недостаточности (ИЦН).

Цель исследования – изучить ассоциацию полиморфизмов A-8202G (rs11697325) гена матриксной металлопротеиназы 9 (MMP9) и Arg25Pro (rs1800471) гена трансформирующего ростового фактора бета 1 (TGF β 1) с истмико-цервикальной недостаточностью у пациенток с недифференцированной дисплазией соединительной ткани.

Материал и методы. В рамках исследования типа «случай-контроль» обследована 71 пациентка с одноплодной маточной беременностью в сроке 22-24 недели. Основная группа – 36 пациенток с ИЦН и НДСТ, группа контроля – 35 здоровых беременных без ИЦН. Проведен анализ акушерско-гинекологического, соматического анамнеза. Методом аллель-специфичной полимеразной цепной реакции (АС-ПЦР) выполнено молекулярно-генетическое типирование обследуемых пациенток по полиморфным локусам генов TGF β 1, MMP9, кодирующих белки, которые участвуют в метаболизме соединительной ткани. Содержание TGF β 1 и MMP9 в сыворотке крови обследованных пациенток определяли методом твердофазного иммуноферментного анализа (ИФА).

Результаты и обсуждение. В основной группе статистически значимо чаще по сравнению с группой контроля регистрировались гомозиготный по вариантному аллелю -8202G (G/G) генотип полиморфизма A-8202G гена MMP9 (OR=4,00; 95% ДИ 1,23-12,98; p=0,02) и гетерозиготный (Arg/Pro) генотип полиморфизма Arg25Pro гена TGF β 1 (OR=3,75; 95% ДИ 1,88-7,47; p<0,0001). Установлена ассоциация указанных генотипов со статистически значимым возрастанием сывороточной концентрации кодируемых ими белков, что позволяет рассматривать данные полиморфные варианты генов TGF β 1 и MMP9 в качестве генетических маркеров формирования ИЦН у пациенток с НДСТ.

Заключение. Носительство G/G генотипа полиморфизма A-8202G (rs11697325) гена MMP9 и Arg/Pro генотипа полиморфизма Arg25Pro (rs1800471) гена TGF β 1 ассоциировано с высоким риском формирования ИЦН у пациенток с НДСТ.

Ключевые слова: полиморфизм гена, истмико-цервикальная недостаточность, недифференцированная дисплазия соединительной ткани, трансформирующий ростовой фактор $\beta 1$ (TGF $\beta 1$), матриксная металлопротеиназа 9 (MMP9).

Abstract.

Undifferentiated connective tissue dysplasia is a widespread condition among reproductive age women (from 53% to 68.8%). This makes it actual to study the role of genetically determined pathological connective tissue metabolism in female patients with this hereditary syndrome in the development of isthmic-cervical insufficiency (CI).

Objectives. To assess the association between single nucleotide polymorphisms (SNPs) A-8202G (rs11697325) MMP9 of the gene, and also Arg25Pro (rs1800471) TGF $\beta 1$ gene and isthmic-cervical insufficiency in female patients with undifferentiated connective tissue dysplasia.

Material and methods. A «case-control» study has been carried out. Medical, obstetric histories and blood samples were obtained from 71 pregnant women at 22-24 weeks of singleton pregnancy with (n=36) and without (n=35) undifferentiated connective tissue dysplasia and CI. Samples were analyzed by using an allele-specific polymerase chain reaction assay for variants in two genes, the MMP9 and TGF $\beta 1$, encoding proteins, participating in connective tissue metabolism. Serum levels of MMP9 and TGF $\beta 1$ were determined by enzyme immunoassay (ELISA).

Results. Two genotypes were significantly associated with isthmic-cervical insufficiency compared with controls: homozygous carriers of the MMP9 -8202G allele (genotype G/G) (OR=4.00, 95% CI 1.23-12.98, p=0.02) and carriers of Arg/Pro genotype of the TGF $\beta 1$ (OR=3.75, 95% CI 1.88-7.47, p<0.0001). Carriers of these genotypes had significantly higher serum levels of encoded by them proteins.

Conclusions. GG genotype of the A-8202G polymorphism of MMP9 gene and ArgPro genotype of the Arg25Pro polymorphism of TGF $\beta 1$ gene are associated with a high risk of isthmic-cervical insufficiency development in female patients with undifferentiated connective tissue dysplasia.

Key words: gene polymorphism, isthmic-cervical insufficiency, undifferentiated connective tissue dysplasia, transforming growth factor $\beta 1$ (TGF $\beta 1$), matrix metalloproteinase 9 (MMP9).

В последние годы широкое распространение получают исследования, посвящённые выявлению ассоциаций полиморфных вариантов генов с определённым заболеванием. Такой интерес научного сообщества объясним: определение генетической детерминанты позволит не только уточнить патогенез болезни, но и разработать оптимальные подходы к её лечению с учетом индивидуальности каждого пациента. Активное развитие молекулярно-биологических, биохимических наук способствует пересмотру традиционных представлений, в том числе и об истмико-цервикальной недостаточности (ИЦН), которая остаётся весьма актуальной проблемой современного акушерства, являясь одной из основных причин поздних репродуктивных потерь: на долю ИЦН приходится 15-40% поздних самопроизвольных выкидышей и 30-35% спонтанных преждевременных родов [1, 2]. Все больше исследователей указывает на связь между дисплазией соединительной ткани и развитием ИЦН, отмечая негативное влияние недифференцированной дисплазии соединительной ткани (НДСТ) на запирательную функцию шейки матки во время беременности, более высокую частоту ИЦН

у беременных с указанным синдромом, а также определённую генетическую детерминированность данного гестационного осложнения: треть беременных с ИЦН имеют родственниц первой линии с таким же осложнением гестации [3]. Известно, что при ИЦН содержание соединительной ткани в шейке матки, на 85% состоящей из коллагена I типа, снижается до 40%, что приводит к раннему ее укорочению, размягчению, развитию функциональной недостаточности. Кроме того, гистоморфологические исследования ткани шейки матки у небеременных с ИЦН в анамнезе позволили выявить более низкую концентрацию как коллагена, так и его метаболита – гидроксипролина в сравнении с аналогичными показателями пациенток без ИЦН в анамнезе [4-6]. Таким образом, всё больше авторов рассматривает патологический метаболизм соединительной ткани в качестве одного из ключевых факторов формирования ИЦН [7-9].

К рассмотрению проблемы ИЦН с позиций наследственных факторов риска располагают и данные о зависимости частоты развития данного гестационного осложнения от расы. Так, у женщин негроидной расы риск развития ИЦН почти

в 3 раза выше по сравнению с европеоидами (относительный риск (ОР)=2,89; 95% доверительный интервал (ДИ) 2,13-3,92) [10]. Важность участия генетических факторов в реализации ИЦН также подтверждается и результатами многочисленных исследований, свидетельствующих, что у женщин с дифференцированными формами дисплазии соединительной ткани (синдромы Эллера-Данло, Стиклера, Марфана) частота преждевременных родов, связанных с ИЦН, колеблется от 22 до 35% от общего числа родов, причем до 40% из них сопровождаются преждевременным разрывом плодных оболочек [11].

Поскольку распространённость недифференцированных форм дисплазии среди женщин репродуктивного возраста достаточно высока (от 53% до 68,8%) [12], изучение ИЦН с точки зрения НДСТ приобретает особую актуальность.

НДСТ относится к наследственным заболеваниям соединительной ткани и обусловлена точковыми мутациями генов, кодирующих синтез и метаболизм соединительной ткани. Следствием таких мутаций является нарушение процессов формирования и созревания пространственной структуры волокон коллагена и эластина, в результате чего происходит снижение их устойчивости к механическим нагрузкам, ускорение дезорганизации и деградации. В отличие от дифференцированных форм дисплазии, имеющих чётко установленные генный дефект, тип наследования, клиническую картину заболевания – данная группа дисплазий выделяется весьма вариабельной клинической картиной и комплексом фенотипических признаков, который не соответствует ни одной из синдромных форм [12, 13].

Таким образом, гены, кодирующие метаболизм соединительной ткани, представляются наиболее перспективными для изучения в заявленном контексте. В качестве генов-кандидатов были выбраны гены, кодирующие продукцию матриксной металлопротеиназы 9 (ММР9) и трансформирующего ростового фактора бета 1 (TGFβ1).

ММР9, или желатиназа В, относится ко второму подсемейству цинк-зависимых эндопептидаз. Субстратом для ММР9 являются денатурированный коллаген I типа, нативные коллагены типов IV, V, энтактин, соединяющий ламинин и коллаген IV типа, который является основным компонентом базальной мембраны многих фиброзных органов, в том числе и шейки матки. В результате повышения активности ММР9 проис-

ходит массивный апоптоз и ускоренное отщепление от базальной мембраны клеток и элементов соединительной ткани, что приводит к стремительному снижению её прочностных характеристик. Рядом исследователей отмечены высокие сывороточные концентрации ММР9 при преждевременных родах, а также непосредственное участие указанного фермента в преждевременном разрыве плодных оболочек [14, 15].

TGFβ1 принимает активное участие в ремоделировании соединительной ткани посредством влияния на синтез белков экстрацеллюлярного матрикса (коллагенов I, III типов и фибронектина). Известно, что увеличенная активность TGFβ1 является одним из ключевых факторов развития таких патологических процессов при синдроме Марфана и родственных наследственных дисплазиях соединительной ткани, как аневризма и расслоение аорты, гипермобильность суставов, миксоматозные изменения атриовентрикулярных клапанов. Следует отметить, что TGFβ1 увеличивает продукцию ММР9 в клетках различных типов через процесс, захватывающий синтез протеина, увеличивающего стабильность мРНК ММР9. С другой стороны, увеличенная ММР9, напротив, способна расщеплять латентный TGFβ1, приводя к активации последнего по принципу обратной связи [16].

Цель исследования – изучить ассоциацию полиморфизмов A-8202G (rs11697325) гена ММР9 и Arg25Pro (rs1800471) гена TGFβ1 с истмико-цервикальной недостаточностью у пациенток с недифференцированной дисплазией соединительной ткани.

Материал и методы

Проведено исследование типа «случай-контроль» с участием 71 беременной, наблюдавшейся на базе УЗ «ВГКРД№2» в 2018-2019 гг. Обследованные женщины были разделены на 2 группы в зависимости от наличия ИЦН и маркеров НДСТ. В основную группу (I группа) вошли 36 пациенток с ИЦН и НДСТ, группу контроля (II группа) составили 35 здоровых беременных без ИЦН.

В исследование не включались пациентки с беременностью, наступившей в результате применения вспомогательных репродуктивных технологий, многоплодной беременностью, ампутацией шейки матки в анамнезе, декомпенсацией акушерской и экстрагенитальной патологии, по-

роками развития плода, дифференцированными формами дисплазии соединительной ткани.

Исследование было выполнено в соответствии со стандартами надлежащей клинической практики (Good Clinical Practice) и принципами Хельсинкской Декларации. Протокол исследования был одобрен этическим комитетом УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет». До включения в исследование у всех участниц было получено письменное информированное согласие.

Обследование беременных включало изучение соматического и акушерско-гинекологического анамнезов, антропометрию (измерение роста, массы тела, определение индекса массы тела), оценку выраженности фенотипических маркеров НДСТ (по ранжированной шкале оценки НДСТ у беременных Керимкуловой Н.В., 2016), определение гипермобильности суставов (по методу Бейтона), осмотр шейки матки в зеркалах, бимануальное влагалищное исследование, трансвагинальную ультразвуковую цервикометрию. Диагностика ИЦН осуществлялась на основании данных клинического исследования и трансвагинальной ультразвуковой цервикометрии (длина сомкнутой части шейки матки ≤ 25 мм, соотношение длины шейки матки к ее диаметру на уровне внутреннего зева менее 1,2, расширение внутреннего зева более 5 мм).

Лабораторное исследование включало молекулярно-генетическое типирование обследуемых пациенток по полиморфным локусам Arg25Pro (915G>C; rs1800471) гена TGF β 1 и A-8202G (rs11697325) гена MMP9, а также определение содержания TGF β 1 и MMP9 в сыворотке крови. ДНК из лейкоцитов крови выделяли с помощью коммерческого набора «ДНК-экспресс-кровь» (НПФ «Литех», РФ). Генотипирование осуществляли с использованием соответствующих коммерческих наборов для выявления мутаций (полиморфизмов) в геноме человека «SNP-экспресс» (НПФ «Литех», РФ) методом аллель-специфичной полимеразной цепной реакции с детекцией результатов методом горизонтального электрофореза в 3% агарозном геле по стандартной схеме.

Содержание MMP9 и TGF β 1 в образцах сыворотки крови определяли с помощью коммерческих тест-систем «Human TGF β 1 Elisa Kit», «Human MMP-9 Elisa Kit», («Elabscience Biotechnology Co., Ltd», Китай) методом иммуноферментного анализа (ИФА). Учёт результатов

проводился с помощью программного обеспечения, адаптированного к ИФА-анализатору производства ОАО «Витязь», Республика Беларусь (фотометр универсальный Ф300 ТП).

Накопление, корректировка, систематизация исходной информации и визуализация полученных результатов осуществлялись в электронных таблицах Microsoft Office Excel 2016. Статистический анализ проводился с использованием программы STATISTICA 10.0 (разработчик StatSoft.Inc). Количественные показатели оценивались на предмет соответствия нормальному распределению с помощью критериев Шапиро-Уилка. Все результаты количественных показателей подчинялись нормальному закону распределения и представлены в виде $M \pm SD$, где M – среднее арифметическое, SD – стандартное отклонение. При анализе межгрупповых различий количественных признаков между двумя независимыми группами рассчитывался t -критерий Стьюдента. С целью сравнения распределения качественных признаков в исследуемых группах использовали критерий Пирсона χ^2 -квadrat (χ^2) с поправкой Йетса на непрерывность. В качестве показателя тесноты связи между количественными показателями, имеющими нормальное распределение, использовался коэффициент корреляции r_{xy} Пирсона.

Распределение генотипов по исследуемым полиморфным локусам проверено на соответствие равновесию Харди-Вайнберга с помощью теста Фишера. Качественные данные представлены в виде числа n и % (число пациенток – носительниц данного аллеля и процент от их количества в группе исследуемых) или десятичной доли единицы (P). Межгрупповые различия по частотам распределения генотипов полиморфных вариантов изучаемых генов определяли при помощи критерия Пирсона χ^2 -квadrat (χ^2). Для анализа ассоциации аллелей и генотипов исследуемых генов с риском развития гестационного осложнения рассчитан относительный риск (ОР) с 95% доверительными интервалами (ДИ). При всех видах статистического анализа различия считались значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Пациентки обеих групп были сопоставимы по возрасту: средний возраст пациенток в основной группе составил $28,9 \pm 4,5$ года, в контрольной группе – $29,3 \pm 5,4$ года.

Среди беременных основной группы наиболее часто фигурировали такие фенотипические и висцеральные маркеры дисплазии, как варикозная болезнь (диагностирована у 52,7% пациенток), пролапс митрального клапана (44,4%), миопия (61,1%), спланхноптоз (25%).

У беременных с НДСТ статистически значимо чаще имел место неблагоприятный исход предыдущей беременности: преждевременное прерывание беременности встречалось у 41,6% беременных основной группы против 11,4% случаев – в контрольной (ОР=3,64; 95% ДИ 1,34-9,91; $p=0,005$), неразвивающаяся беременность имела место в анамнезе у 33,3% и 11,4% пациенток соответственно (ОР=2,9; 95% ДИ 1,04-8,18; $p=0,03$).

По паритету беременности, а также по частоте и характеру гинекологической патологии основная и контрольная группы между собой не различались.

Ведущее место в структуре осложнений настоящей беременности у женщин основной группы занимали гестационные осложнения, ассоциированные с невынашиванием: достоверно чаще в сравнении с группой контроля у беременных с ИЦН и НДСТ диагностировались в I триместре угрожающий и начавшийся выкидыш (55,6% против 31,4%, ОР=1,8; 95% ДИ 1,01-3,12; $p=0,041$), ретрохориальная гематома (30,5% про-

тив 8,6%, ОР=3,4; 95% ДИ 1,05-11,35; $p=0,024$), во II и III триместрах в 2,4 раза чаще – преждевременное излитие околоплодных вод (ОР=2,43; 95% ДИ 1,23-4,77; $p=0,07$).

У беременных основной группы среднее значение концентрации MMP9 в сыворотке крови в 1,4 раза превысило значение данного показателя в группе контроля ($1,43 \pm 0,34$ нг/мл против $1 \pm 0,35$ нг/мл, $p=0,000002$), уровень сывороточной концентрации TGF β 1 в основной группе также статистически значимо превысил значение данного показателя в контрольной группе ($32,2 \pm 12,0$ нг/мл против $16,4 \pm 5,7$ нг/мл, $p < 0,0001$), что свидетельствует об усиленном коллагенолизе у пациенток с ИЦН на фоне НДСТ.

Нами установлена обратная умеренная статистически значимая корреляция между длиной шейки матки и уровнем MMP9 в сыворотке крови у пациенток основной группы ($r=-0,49$, $p=0,0025$) (рис. 1).

Характер распределения аллелей и генотипов по полиморфным вариантам исследуемых генов в обеих группах соответствовал равновесию Харди–Вайнберга. Полученные результаты распространенности полиморфных аллелей генов MMP9 и TGF β 1 у женщин контрольной группы совпали с соответствующими данными базы данных NCBI (db SNP).

При анализе распределения частот геноти-

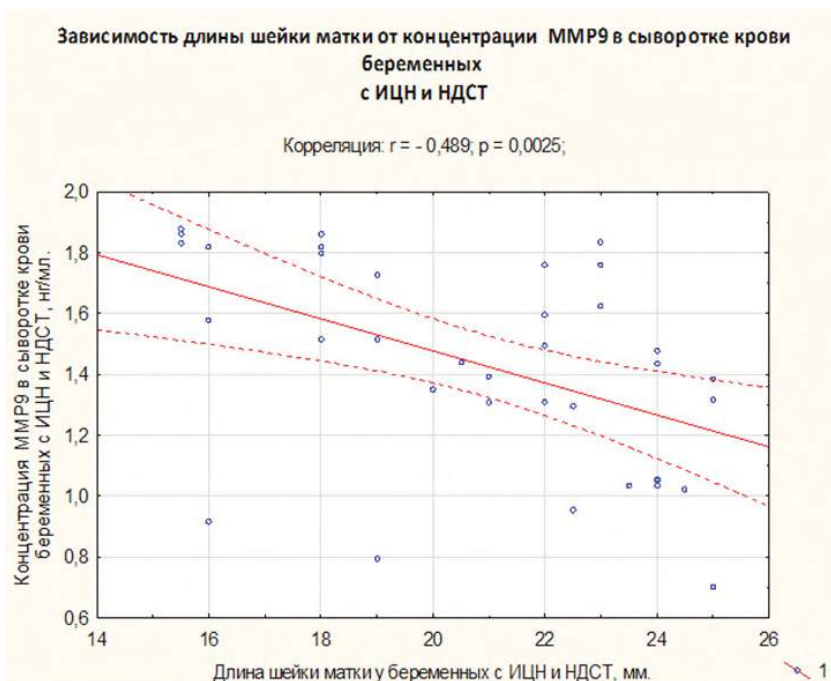


Рисунок 1 — Зависимость длины шейки матки от сывороточной концентрации MMP9 у пациенток основной группы.

пов по полиморфизму А-8202G гена MMP9 было установлено, что гомозиготный по вариантному аллелю -8202G (G/G) генотип статистически значимо чаще встречался в основной группе по сравнению с группой контроля (OR=4,00; 95% ДИ 1,23-12,98; p=0,02). В целом, вариантный аллель -8202G можно расценивать как «аллель риска» развития ИЦН у пациенток с НДСТ, так как было выявлено, что его присутствие в генотипе как в гомо-, так и в гетерозиготном состоянии ассоциировано с более высокой частотой встречаемости данного гестационного осложнения (OR=1,84; 95% ДИ 1,01-3,39; p=0,04) (табл. 1).

При анализе распределения частот генотипов по полиморфизму Arg25Pro гена TGFβ1 в основной группе была зарегистрирована статистически значимо более высокая частота встречаемости по сравнению с группой контроля гетерозиготного генотипа (Arg/Pro) данного полиморфного локуса (OR=3,75; 95% ДИ 1,88-7,47; p<0,0001). Интересно отметить, что гомозиготный по аллели Arg25- генотип (Arg/Arg)

чаще встречался именно в контрольной группе (OR=0,29; 95% ДИ 0,15-0,6; p<0,0001) (табл. 2).

В ходе проведенного исследования зависимости концентрации MMP9 в сыворотке крови обследованных пациенток от генотипа по полиморфизму А-8202G гена MMP9 было установлено, что у пациенток с наличием «мутантного» аллеля -8202G (A/G и G/G генотипы), содержание MMP9 было статистически значимо выше, чем у носительниц генотипа A/A, и составило 1,31±0,43 нг/мл против 1,08±0,31 нг/мл (p=0,021). Причем наиболее высокий уровень MMP9 был выявлен у беременных с генотипом G/G (табл. 3).

При изучении влияния генотипов полиморфизма Arg25Pro гена TGFβ1 на сывороточную концентрацию кодируемого им белка была выявлена сопряженность генотипа Arg/Pro указанного полиморфизма со статистически значимо более высокой сывороточной концентрацией TGFβ1 в сравнении с данным показателем у носительниц гомозиготного генотипа по аллелю Arg25- (табл. 4). Таким образом, наличие у пациенток с НДСТ

Таблица 1 – Распределение частот генотипов по полиморфизму А-8202G гена MMP9 у пациенток основной и контрольной групп

Генотип, аллель	Частота, P		χ ²	p	OR	95% ДИ
	ИЦН+НДСТ (n=36)	Контрольная группа (n=35)				
A/A	0,28	0,48	3,26	0,07	0,57	0,30-1,07
A/G	0,38	0,43	0,12	0,73	0,90	0,52-1,59
G/G	0,34*	0,09	5,39	0,02	4,00	1,23-12,98
Аллель А-8202	0,47	0,7	3,31	0,07	0,68	0,46-1,04
Аллель 8202G	0,53*	0,3	4,30	0,04	1,84	1,01-3,39

Примечание: * – различия статистически значимы по сравнению с группой контроля (p<0,05); OR – относительный риск; ДИ – доверительный интервал.

Таблица 2 – Распределение частот генотипов по полиморфизму Arg25Pro гена TGFβ1 у пациенток основной и контрольной групп

Генотип, аллель	Частота, P		χ ²	p	OR	95% ДИ
	ИЦН+НДСТ (n=36)	Контрольная группа (n=35)				
Arg/Arg	0,19*	0,66	15,57	0,0001	0,29	0,15-0,6
Arg/Pro	0,75*	0,2	21,51	0,0001	3,75	1,88-7,47
Pro/Pro	0,05	0,14	0,69	0,40	0,39	0,08-1,87
Аллель Arg25	0,57	0,74	2,73	0,1	0,75	0,53-1,06
Аллель 25Pro	0,43	0,26	2,02	0,16	1,62	0,82-3,21

Примечание: * – различия статистически значимы по сравнению с группой контроля (p<0,05).

Таблица 3 – Зависимость сывороточной концентрации MMP9 от генотипа по полиморфизму A-8202G гена MMP9 у обследованных пациенток

Концентрация	Генотип			t-Test; p		
	I	II	III	P _{I-II}	P _{I-III}	P _{II-III}
	A/A (n=27)	A/G (n=29)	G/G (n=15)			
MMP-9, нг/мл	1,30±0,24	1,33±0,36	1,68±0,23*	0,88	0,0017	0,007

Примечание: * – различия статистически значимы при сравнении с показателями I и II группы (p<0,05).

Таблица 4 – Зависимость сывороточной концентрации TGFβ1 по полиморфизму Arg25Pro гена TGFβ1 у обследованных пациенток

Концентрация	Генотип			t-Test; p		
	I	II	III	P _{I-II}	P _{I-III}	P _{II-III}
	Arg/Arg (n=30)	Arg/Pro (n=34)	Pro/Pro (n=7)			
TGFβ1, нг/мл	21,16±13,05	27,81±12,04*	23,25±6,37	0,039	0,82	0,21

Примечание: * – различия статистически значимы при сравнении с показателями I группы (p<0,05).

«мутантных» генотипов генов MMP9 и TGFβ1 связано со статистически значимым увеличением сывороточной концентрации кодируемых ими белков.

Полученные результаты позволяют рассматривать указанные полиморфные варианты генов TGFβ1 и MMP9 в качестве генетических маркеров формирования ИЦН у пациенток с НДСТ.

При анализе исходов настоящей беременности у обследуемых пациенток было выявлено, что частота преждевременных родов в основной группе составила 36,11% против 2,86% случаев в контрольной группе (OR=12,63; 95% ДИ 1,74-91,45; p=0,0006). Обращает на себя внимание, что в структуре преждевременных родов у пациенток с ИЦН и НДСТ преобладали очень ранние (до 28 недель) и ранние (от 28 недель до 33 недель 6 дней) преждевременные роды – 7 (53,8%) случаев, тогда как единственные преждевременные роды, имевшие место в группе контроля, относились к поздним (от 34 недель до 36 недель 6 дней).

Заключение

1. Установлена ассоциация изучаемых полиморфных вариантов генов с истмико-цервикальной недостаточностью у пациенток с недифференцированной дисплазией соединительной ткани: у женщин основной группы статистически значимо чаще в сравнении с пациентками контрольной группы регистрировались генотип G/G полиморфизма A-8202G, (rs11697325) гена

MMP9 и генотип Arg/Pro полиморфного локуса Arg25Pro (rs1800471) гена TGFβ1 (OR=4,00; 95% ДИ 1,23-12,98; p=0,02; и OR=3,75; 95% ДИ 1,88-7,47; p<0,0001 соответственно), что позволяет рассматривать указанные генотипы в качестве маркеров высокой вероятности развития ИЦН у данной когорты пациенток.

2. У женщин контрольной группы статистически значимо чаще имел место генотип Arg/Arg полиморфного локуса Arg25Pro (rs1800471) гена TGFβ1 (OR=0,29; 95% ДИ 0,15-0,6; p<0,0001), что можно расценить как «протективный» эффект в отношении ИЦН.

Таким образом, молекулярно-генетическое типирование полиморфных вариантов A-8202G (rs11697325) гена MMP9 и Arg25Pro (rs1800471) гена TGFβ1 позволит на прегравидарном этапе и на ранних сроках беременности сформировать группы высокого риска по развитию истмико-цервикальной недостаточности у пациенток с НДСТ, разработать индивидуальные рекомендации по профилактике и ранней диагностике данного гестационного осложнения, повысить эффективность его лечения и, таким образом, улучшить акушерский и перинатальный прогнозы.

Финансирование: Настоящее исследование выполнено в рамках внутриуниверситетского научного стартап-гранта для молодых ученых учреждения образования «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет» 2019 года.

Financing: *This research was carried out within the frames of intra-University scientific startup-grant for young scientists of «Vitebsk State order of Peoples' Friendship medical University» in 2019.*

Литература

1. Сидельникова, В. М. Невынашивание беременности : рук. для практикующих врачей / В. М. Сидельникова, Т. Г. Сухих. – Москва : МИА, 2010. – 536 с.
2. Vink, J. Cervical etiology of spontaneous preterm birth / J. Vink, H. Feltovich // *Semin. Fetal. Neonatal Med.* – 2016 apr. – Vol. 21, N 2. – P. 106–112.
3. Collagen 1 α 1 and Transforming Growth Factor- β Polymorphisms in Women With Cervical Insufficiency / J. E. Warren [et al.]. – 2007 Sep. – Vol. 110, N 3. – P. 619–624.
4. Petersen, L. K. Cervical collagen in non-pregnant women with previous cervical incompetence / L. K. Petersen, N. Uldbjerg // *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* – 1996 Jul. – Vol. 67, N 1. – P. 41–45.
5. Cross-linked collagen in the cervix of pregnant women with cervical insufficiency / D. Schlembach [et al.] // *Am. J. Obstet. Gynecol.* – 2003 Dec. – Vol. 189, N 6, suppl. – P. S70.
6. Cervical collagen is reduced in non-pregnant women with a history of cervical insufficiency and a short cervix / I. Sundtoft [et al.] // *Acta Obstet. Gynecol. Scand.* – 2017 Aug. – Vol. 96, N 8. – P. 984–990.
7. Гурбанова, С. Р. Возможности оптимизации акушерской тактики ведения беременности и родов у пациенток с истмико-цервикальной недостаточностью и маркерами недифференцированной дисплазии соединительной ткани / С. Р. Гурбанова // *Вестн. РУДН. Сер. Медицина.* – 2009. – № 6. – С. 196–200.
8. Cervical Collagen Network Remodeling in Normal

9. Pregnancy and Disrupted Parturition in Antxr2 Deficient Mice / K. Yoshida [et al.] // *J. Biomech. Eng.* – 2014 Feb. – Vol. 136, N 2. – P. 021017.
9. Фролов, А. Л. Роль маркеров дисплазии соединительной ткани в развитии истмико-цервикальной недостаточности при беременности / А. Л. Фролов, В. А. Кулагин, М. В. Никифорова // *Мать и дитя в Кузбассе.* – 2014. – № 3. – С. 54–56.
10. Maternal race/ethnicity and cervical insufficiency / L. Davidson [et al.] // *Am. J. Obstet. Gynecol.* – 2016 Jan. – Vol. 214, N 1, suppl. – P. S441.
11. Pregnancy outcomes in women with ehlers-danlos syndrome / L. Nicholls-Dempsey [et al.] // *Am. J. Obstet. Gynecol.* – 2019 Jan. – Vol. 220, N 1. – P. S381–S382.
12. Национальные клинические рекомендации Российского научного медицинского общества терапевтов по диагностике, лечению, реабилитации пациентов с дисплазиями соединительной ткани (первый пересмотр) // *Мед. вестн. Север. Кавказа.* – 2018. – Т. 13, № 1/2. – С. 137–209.
13. Масленников, А. В. Течение беременности у женщин с недифференцированной дисплазией соединительной ткани / А. В. Масленников, А. Г. Яшук, И. Р. Тимершина // *Мед. вестн. Башкортостана.* – 2014. – Т. 9, № 3. – С. 55–58.
14. A role for matrix metalloproteinase-9 in spontaneous rupture of the fetal membranes / N. Athayde [et al.] // *Am. J. Obstet. Gynecol.* – 1998 Nov. – Vol. 17, N 5. – P. 1248–1253.
15. The value of cervical length and plasma proMMP-9 levels for the prediction of preterm delivery in pregnant women presenting with threatened preterm labor / D. Botsis [et al.] // *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* – 2006 Sep-Oct. – Vol. 128, N 1/2. – P. 108–112.
16. Рудой, А. С. TGF-beta-зависимый патогенез синдрома Марфана и родственных наследственных нарушений соединительной ткани / А. С. Рудой // *Артер. гипертензия.* – 2009. – Т. 15, № 2. – С. 223–226.

Поступила 14.02.2020 г.

Принята в печать 01.06.2020 г.

References

1. Sidel'nikova VM, Sukhikh TG. Miscarriage : ruk dlia praktikuiushchikh vrachei. Moscow, RF: MIA; 2010. 536 p. (In Russ.)
2. Vink J, Feltovich H. Cervical etiology of spontaneous preterm birth. *Semin Fetal Neonatal Med.* 2016 Apr;21(2):106-12. doi: 10.1016/j.siny.2015.12.009
3. Warren JE, Silver RM, Dalton J, Nelson LT, Branch DW, Porter TF. Collagen 1 α 1 and Transforming Growth Factor- β Polymorphisms in Women With Cervical Insufficiency. *Obstet Gynecol.* 2007 Sep;110(3):619-24. doi: 10.1097/01.AOG.0000277261.92756.1a
4. Petersen LK, Uldbjerg N. Cervical collagen in non-pregnant women with previous cervical incompetence. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 1996 Jul;67(1):41-5. doi: 10.1016/0301-2115(96)02440-2
5. Schlembach D, Maul Y, Fittkow C, Olson G, Saade G, Garfield R. Cross-linked collagen in the cervix of pregnant women with cervical insufficiency. *Am J Obstet Gynecol.*

- 2003 Dec;189(6 Suppl):S70. doi: 10.1016/j.ajog.2003.10.034
6. Sundtoft I, Langhoff-Roos J, Sandager P, Sommer S, Uldbjerg N. Cervical collagen is reduced in non-pregnant women with a history of cervical insufficiency and a short cervix. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2017 Aug;96(8):984-990. doi: 10.1111/aogs.13143
7. Gurbanova SR. Opportunities for optimizing obstetric management of pregnancy and childbirth in patients with isthmic-cervical insufficiency and markers of undifferentiated connective tissue dysplasia. *Vestn RUD. Ser Meditsina.* 2009;(6):196-200. (In Russ.)
8. Yoshida K, Reeves C, Vink J, Kitajewski J, Wapner R, Jiang H, et al. Cervical Collagen Network Remodeling in Normal Pregnancy and Disrupted Parturition in Antxr2 Deficient Mice. *J Biomech Eng.* 2014 Feb;136(2):021017. doi: 10.1115/1.4026423
9. Frolov AL, Kulagin VA, Nikiforova MV. The role of markers of connective tissue dysplasia in the development of isthmic-cervical insufficiency during pregnancy. *Mat' Ditia Kuzbasse.* 2014;(3):54-6. (In Russ.)

10. Davidson L, Tucker L-Y, Postlethwaite D, Greenberg M. Maternal race/ethnicity and cervical insufficiency. *Am J Obstet Gynecol.* 2016 Jan;214(1 Suppl):S441. doi: 10.1016/j.ajog.2015.10.896
11. Nicholls-Dempsey L, Spiegel E, Czuzoj-Shulman N, Abenhaim HA. Pregnancy outcomes in women with Ehlers-danlos syndrome. *Am J Obstet Gynecol.* 2019 Jan;220(1):S381-2. doi: 10.1016/j.ajog.2018.11.596
12. National clinical recommendations of the Russian Scientific Medical Society of Therapists in the diagnosis, treatment, and rehabilitation of patients with connective tissue dysplasia (first review). *Med Vestn Sever Kavkaza.* 2018;13(1-2):137-209. (In Russ.)
13. Maslennikov AV, Yashchuk AG, Timerschina IR. Pregnancy in women with undifferentiated connective tissue dysplasia. *Med Vestn Bashkortostana.* 2014;9(3):55-8. (In Russ.)
14. Athayde N, Edwin SS, Romero R, Gomez R, Maymon E, Pacora P, et al. A role for matrix metalloproteinase-9 in spontaneous rupture of the fetal membranes. *Am J Obstet Gynecol.* 1998 Nov;179(5):1248-53. doi: 10.1016/s0002-9378(98)70141-3
15. Botsis D, Makrakis E, Papagianni V, Kouskouni E, Grigoriou O, Dendrinis S, et al. The value of cervical length and plasma proMMP-9 levels for the prediction of preterm delivery in pregnant women presenting with threatened preterm labor. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2006 Sep-Oct;128(1-2):108-12. doi: 10.1016/j.ejogrb.2005.10.022
16. Rudoy AS. TGF-beta-dependent pathogenesis of Marfan syndrome and related hereditary connective tissue disorders. *Arter Gipertenziia.* 2009;15(2):223-6. (In Russ.)

Submitted 14.02.2020

Accepted 01.06.2020

Сведения об авторах:

Кононенко И.С. – ассистент кафедры акушерства и гинекологии, Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет,
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4915-8269>.

Information about authors:

Kononenko I.S. – lecturer of the Chair of Obstetrics and Gynecology, Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University,
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4915-8269>.

Адрес для корреспонденции: Республика Беларусь, 210009, г. Витебск, пр. Фрунзе, 27, Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет, кафедра акушерства и гинекологии. E-mail: IrynaKananenka@yandex.by – Кононенко Ирина Сергеевна.

Correspondence address: Republic of Belarus, 210009, Vitebsk, 27 Frunze ave., Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University, Chair of Obstetrics and Gynecology. E-mail: IrynaKananenka@yandex.by – Irina S. Kononenko.

АНЕСТЕЗИОЛОГИЧЕСКОЕ ОБЕСПЕЧЕНИЕ И ИНТЕНСИВНАЯ ТЕРАПИЯ ЧЕРЕПНО-МОЗГОВОЙ ТРАВМЫ И С-РЕАКТИВНЫЙ БЕЛОК КАК КРИТЕРИЙ ВЫЖИВАЕМОСТИ И ЭФФЕКТИВНОСТИ ЛЕЧЕНИЯ ПАЦИЕНТОВ

МАРКЕВИЧ Д.П.¹, МАРОЧКОВ А.В.², ЛИВИНСКАЯ В.А.³

¹Могилевская городская больница скорой медицинской помощи, г. Могилев, Республика Беларусь

²Могилевская областная больница, г. Могилев, Республика Беларусь

³Белорусско-Российский университет, г. Могилев, Республика Беларусь

Вестник ВГМУ. – 2020. – Том 19, №3. – С. 59-68.

ANESTHESIOLOGIC MANAGEMENT AND INTENSIVE CARE OF TRAUMATIC BRAIN INJURY AND C-REACTIVE PROTEIN AS A CRITERION OF SURVIVAL AND TREATMENT EFFICACY OF PATIENTS

MARKEVICH D.P.¹, MAROCHKOV A.V.², LIVINSKAYA V.A.³

¹Mogilev Emergency City Hospital, Mogilev, Republic of Belarus

²Mogilev Regional Hospital, Mogilev, Republic of Belarus

³Belarusian-Russian University, Mogilev, Republic of Belarus

Vestnik VGMU. 2020;19(3):59-68.

Резюме.

Цель – определить динамику содержания С-реактивного белка в сыворотке крови и возможности его использования как критерия степени тяжести и исхода лечения пациентов с черепно-мозговой травмой.

Материал и методы. У 48 пациентов, оперированных по причине черепно-мозговой травмы (ЧМТ), в зависимости от тяжести и исхода лечения провели анализ С-реактивного белка (СРБ) сыворотки крови. СРБ определяли на 7 этапах исследования: на 1 этапе за 1-2 часа до операции, далее после операции: 2 этап – через 11 (6; 17) часов, 3 этап – через 35 (29; 40) часов, 4 этап – через 60 (52; 65) часов, 5 этап – через 108 (100; 113) часов, 6 этап – через 155 (148; 161) часов, 7 этап – через 226 (220; 233) часов.

Результаты. Значимые различия СРБ между группами пациентов с тяжелой и средней ЧМТ выявили на 5-7 этапах. На 5 этапе у пациентов с тяжелой ЧМТ СРБ был 108,8 (103,4;187,6) мг/л, со средней ЧМТ – 38,8 (27,2;78,5) мг/л, $p=0,001$. На 6 этапе у пациентов с тяжелой ЧМТ СРБ был 104,8 (90,8;174,5) мг/л, со средней ЧМТ – 10,5 (3,8;25,9) мг/л, $p=0,002$. На 7 этапе у пациентов с тяжелой ЧМТ СРБ был 107,1 (83,4;144,6) мг/л, со средней ЧМТ – 11,0 (5,5;84,5) мг/л, $p=0,008$. Чувствительность СРБ на 7 этапе для неблагоприятного исхода была 69%, специфичность – 80%.

Заключение. Максимальное содержание СРБ у пациентов с ЧМТ отметили через 60 (52;65) часов после краниотомии – 110 (90,7;171) мг/л. Достоверные различия СРБ в сыворотке крови между пациентами с тяжелой и средней ЧМТ выявили на 5, 7 и 10 сутки после операции. Уровень СРБ через 108 (100;113) часов после операции обладает прогностической способностью развития неблагоприятного исхода ЧМТ.

Ключевые слова: С-реактивный белок, черепно-мозговая травма, анестезия, нейроанестезиология.

Abstract.

Objectives. To determine the changes in the level of serum C-reactive protein (CRP) in the blood serum and the possibility of its use as a criterion to predict the severity and outcome of patients' treatment with traumatic brain injury (TBI).

Material and methods. CRP was made in 48 operated patients with TBI. Patients were different with respect to the severity of their condition and treatment outcomes. CRP was determined at 7 stages of the study: stage I – until 1-2 hours before

surgery, then after surgery: stage II – in 11 (6; 17) hours, stage III – in 35 (29; 40) hours, stage IV – in 60 (52; 65) hours, stage V – in 108 (100; 113) hours, stage VI – in 155 (148; 161) hours, stage VII – after 226 (220; 233) hours.

Results. Significant differences in CRP between groups of patients with severe and moderate TBI were revealed at stages V – VII. At the 5th stage, in patients with severe TBI CRP was 108.8 (103.4; 187.6) mg/l, with a moderate head injury – 38.8 (27.2; 78.5) mg/l, $p=0.001$. At stage VI, in patients with severe head injury, CRP was 104.8 (90.8; 174.5) mg/l, with a moderate head injury – 10.5 (3.8; 25.9) mg/l, $p=0.002$. At stage VII, in patients with severe TBI, CRP was 107.1 (83.4; 144.6) mg/l, with a moderate TBI – 11.0 (5.5; 84.5) mg/l, $p=0.008$. The sensitivity of CRP at stage VII for an unfavorable outcome was 69%, specificity – 80%.

Conclusions. The highest level of CRP in patients with head injury was noted in 60 (52; 65) hours after craniotomy – 110 (90.7; 171) mg/l. Significant differences of serum CRP between patients with severe and moderate TBI were revealed on the 5th, 7th and 10th day after surgery. The level of CRP in 108 (100; 113) hours after surgery has a prognostic ability to develop an unfavorable TBI outcome.

Key words: C-reactive protein, traumatic brain injury, anesthesia, neuroanesthesiology.

С-реактивный белок (СРБ) является одним из основных показателей острой фазы воспалительной реакции. Его концентрация в сыворотке крови повышается через 6-8 часов после начала системного воспалительного ответа и может увеличиваться в 10-100 раз в сравнении с исходными значениями [1-5]. Повышенное содержание СРБ коррелирует со степенью воспалительной реакции и клеточной альтерации при различных патологических состояниях, обусловленных инфекцией, травмой, оперативным вмешательством, онкологическим заболеванием, хроническим воспалительным процессом, некрозом тканей и т.п. [1-6]. В различных областях анестезиологии и хирургии периоперационные показатели СРБ рассматривают как критерий адекватности анестезиологического обеспечения и травматичности оперативного вмешательства [4, 7]. В некоторых исследованиях СРБ изучали как прогностический маркер тяжести течения и исхода лечения заболеваний [1, 5, 8-11].

Системный стрессовый ответ организма на травму головного мозга имеет свои особенности, которые касаются и изменения уровня СРБ. В настоящее время черепно-мозговую травму (ЧМТ) рассматривают как общую реакцию нарушения гомеостаза на повреждение ЦНС [9, 12]. В базе данных информационного ресурса PubMed за период с 2000 г. по 2020 г. при поиске по ключевым словам «С-реактивный белок, анестезия, черепно-мозговая травма, нейроанesthesiology, нейрохирургия» найдено 25 публикаций. Некоторые исследователи отмечали менее выраженный стресс-ответ и незначительное увеличение СРБ у пациентов с ЧМТ и связывали это с наличием гематоэнцефалического барьера [5]. В то же время

другие авторы указывали на значительное содержание СРБ у пациентов с ЧМТ [9-11, 13]. Представляет интерес исследовать динамику содержания С-реактивного белка у пациентов с травмами головного мозга в периоперационном периоде и его корреляции с особенностями течения и исходами лечения данного контингента пациентов.

Цель исследования – определить динамику содержания С-реактивного белка в сыворотке крови и возможности его использования в качестве критерия степени тяжести и исхода лечения пациентов с черепно-мозговой травмой.

Материал и методы

После разрешения комитета по этике за период с 01.05.2018 г. по 31.01.2020 г. было проведено проспективное нерандомизированное исследование. В него включили 48 (7 женщин и 41 мужчину) пациентов, которым было показано оперативное лечение черепно-мозговой травмы. Критерии включения в исследование: возраст пациентов 18 лет и старше; наличие письменного информированного согласия пациента на участие в исследовании (в случае его недееспособности – согласие его законного представителя). Критерии исключения из исследования: возраст пациентов до 18 лет; отказ пациента от участия в исследовании; аллергические реакции на используемые лекарственные средства.

Возраст пациентов составил 54 (40; 60) года. Масса тела пациентов была 77,5 (70; 83) кг, рост – 173 (168; 176) см. При поступлении в стационар все пациенты были оценены по шкале ком Глазго (ШКГ) и шкале АРАСНЕ II. Время от момента травмы до начала операции составило

Таблица 1 – Общая характеристика пациентов с черепно-мозговой травмой, n=48, Me (LQ; UQ)

Показатели	Значение
Пол, муж/жен	41/7
Возраст, лет	54 (41; 61)
Масса тела, кг	77,5 (70; 84)
ШКГ, баллы	12 (6; 14)
АРАСНЕ II, баллы	11 (5; 15)
Трепанация резекционная/костнопластическая	7/41
Объем внутричерепной гематомы, мл	76 (55; 122,5)
Смещение срединных структур головного мозга, мм	6 (2; 10,5)
Ушиб головного мозга, наличие (%)	33 (68,8%)
Интраоперационная кровопотеря, мл	378 (277; 655)
Летальный исход, случаи (%)	14 (29,2%)
Исход благоприятный/неблагоприятный	29/19

15,5 (5,5; 31) часа. Общая характеристика пациентов представлена в таблице 1.

Всем пациентам в предоперационном периоде выполнили рентгеновскую компьютерную томографию головы. Причинами краниотомий были травматические внутричерепные гематомы и ушибы головного мозга. Объем гематом определяли по данным нейровизуализации или интраоперационно во время их удаления. Объем кровопотери во время операции рассчитывали методом гемоглобинового баланса.

Для анестезиологического обеспечения нейрохирургических вмешательств у 27 (56,3%) пациентов применили общую анестезию, а у 21 (43,7%) пациента применили комбинированную общую анестезию в сочетании с проводниковыми блокадами периферических нервов волосистой части головы малыми объемами (0,5-1,0 мл для одного нерва) 0,75% или 1% ропивакаина. Общая анестезия в обеих группах была представлена многокомпонентной сбалансированной эндотрахеальной анестезией в варианте тотальной внутривенной анестезии. С целью премедикации внутривенно вводили 0,4-0,6 мг атропина, 5-10 мг диазепама или 2,5-7,5 мг мидазолама. Для вводной анестезии использовали фентанил в дозе 1-1,5 мкг/кг и пропофол в дозе 1-2 мг/кг, для миорелаксации использовали 0,5-0,6 мг/кг тракриума или 0,6-0,7 мг/кг рокурониума или 1,5 мг/кг сукцинилхолина. Для поддержания анестезии использовали внутривенное титрование пропофола в дозе 2-5 мг/кг/час. Анальгезию в группе пациентов с общей анестезией и в группе пациентов с комбинированной анестезией при неэффективности блокад нервов головы обеспечивали болюсными введениями фентанила в дозе 1-4 мкг/

кг/час. Для поддержания миорелаксации внутривенно болюсно вводили тракриум в дозе 0,1-0,3 мг/кг/час или рокурониум в дозе 0,1-0,2 мг/кг/час. Блокады периферических нервов головы выполняли после индукции анестезии и перевода пациента на искусственную вентиляцию легких (ИВЛ) [14].

Из 48 пациентов с учетом тяжести состояния при поступлении в стационар сформировали две группы. В группу пациентов с тяжелым состоянием включили 21 пациента с ЧМТ с уровнем сознания по ШКГ ≤ 9 баллам. В группу пациентов средней тяжести включили 27 пациентов с уровнем сознания по ШКГ ≥ 10 баллов. В группе тяжелых пациентов у 11 (52,4%) применили комбинированную анестезию, а у 10 (47,6%) пациентов применили общую анестезию. В группе пациентов средней тяжести у 10 (37%) пациентов применили комбинированную анестезию, а у 17 (63%) пациентов применили общую анестезию.

После хирургического вмешательства пациентов переводили в отделение анестезиологии и реанимации. В послеоперационном периоде с целью обезболивания использовали парацетамол, нестероидные противовоспалительные средства, наркотические анальгетики, проводниковые блокады нервов скальпа. В случаях, когда пациенты находились в бессознательном состоянии для обезболивания и с целью синхронизации с аппаратом ИВЛ внутривенно титровали фентанил в дозе 1-2 мкг/кг/час и диазепам в дозе 0,1-0,2 мг/кг/час. При наличии отека и ушиба головного мозга в первые 3-5 суток после операции применяли 15% раствор маннита в дозе 0,5-1,0 гр/кг/сутки. 18 (85,7%) пациентам с тяжелой ЧМТ и 2 (7,4%) пациентам со средней ЧМТ, у которых

прогнозировалась продленная ИВЛ, на 1-2 сутки после краниотомии произвели трахеостомию.

Через 6 месяцев после оперативного лечения у 48 пациентов с помощью шкалы исходов Глазго (ШИГ) оценили качество жизни. Оценку по ШИГ проводили во время телефонного опроса пациентов или их родственников, а также при повторной госпитализации пациентов для проведения краниопластики по причине послеоперационного дефекта черепа. При оценке по ШИГ 1-3 балла (1 – смерть пациента, 2 – вегетативное состояние, 3 – глубокая инвалидизация) исход лечения расценивали как неблагоприятный. При оценке по ШИГ 4 или 5 баллов (4 – инвалидизация с возможностью самообслуживания, 5 – восстановление с возможностью вернуться к прежней деятельности) исход лечения расценивали как благоприятный.

Содержание СРБ в сыворотке венозной крови определяли с помощью биохимического анализатора ВА 400 Biosystems (Испания) при референтных значениях СРБ 0-5 мг/л. Забор венозной крови для определения СРБ производили на следующих этапах исследования: 1 этап (исходный) за 1-2 часа до операции, а после окончания операции на 2 этапе (1 сутки после операции) через 11 (6; 17) часов, на 3 этапе (2 сутки после операции) через 35 (29; 40) часов, на 4 этапе (3 сутки после операции) через 60 (52; 65) часов, на 5 этапе (5 сутки после операции) через 108 (100; 113) часов, на 6 этапе (7 сутки после операции) через 155 (148; 161) часов и на 7 этапе (10 сутки после краниотомии) через 226 (220; 233) часов.

Статистическую обработку данных проводили с использованием программы Statistica 8.0 и Microsoft Excel 2007 (RealStatistics 6.2). Проверку соответствия данных нормальному распределению осуществляли с помощью критерия Shapiro-Wilk's test. Для проверки значимости статистических гипотез использовали непараметрические методы. Описательная статистика представлена в виде медианы и квартилей Me (LQ; UQ) для количественных и процентными соотношениями для качественных признаков. Проверку гипотезы о статистически значимом различии в независимых группах проводили с помощью теста Манна-Уитни, а гипотезу об отсутствии статистической значимой связи между количественными признаками с помощью коэффициента корреляции Спирмена. Для определения лучшего классификатора неблагоприятного исхода оценивали коэффициенты логистической регрессии с постро-

ением ROC-кривых и вычислением площади под ними (AUC), чувствительности и специфичности, прогностической ценности положительного (PPV) и отрицательного (NPV) результатов теста. Качество модели в зависимости от AUC оценивалось как хорошее при 0,7-0,8, очень хорошее при 0,8-0,9, отличное при 0,9-1,0. Нулевые гипотезы отвергались на уровне $p < 0,05$. Оценивались вероятности $p(X)$, неблагоприятного исхода при конкретном значении предиктора (уровень СРБ на этапах исследования) путем построения уравнений логистической регрессии вида:

$$p(X) = \frac{1}{1 - EXP(b_0 + b_1 \cdot X)}$$

Значимость коэффициентов проверялась с помощью статистики Вальда (Wald), самого уравнения с помощью статистик χ^2 и Хосмера-Лемешова (HL). Оценивались верхний и нижний пределы изменения шанса возникновения неблагоприятного исхода ($EXP(b_1)$). Сравнение категориальных переменных двух независимых групп проводили с использованием критерия хи-квадрат (χ^2) Пирсона, при числе наблюдений менее 10 применяли критерий χ^2 с поправкой Йетса на непрерывность, а при числе наблюдений 5 и менее использовали двусторонний критерий Фишера. Статистическую значимость различий уровня СРБ между этапами исследования определяли по критерию Вилкоксона. Различия считали достоверными при $p < 0,05$.

Результаты

Содержание СРБ в сыворотке крови на исходном этапе в общей группе пациентов с ЧМТ составило 8,5 (5,2; 30,9) мг/л. Через 11 (6; 17) часов после операции отмечено достоверное увеличение СРБ – 45,2 (11,1; 67,8) мг/л по сравнению с исходным значением, $p = 0,025$. Через 35 (29; 40) часов (3 этап) после операции наблюдалось достоверное увеличение уровня СРБ по сравнению с этапом 2 – 103,1 (84,2; 145,7) мг/л, $p = 0,0016$. Через 60 (52; 65) часов после нейрохирургического вмешательства (4 этап, 3 сутки после операции) уровень СРБ достиг максимального значения без достоверных различий с 3 этапом и составил 110 (90,7; 171) мг/л, $p = 0,27$. Через 108 (100; 113) часов после операции (5 этап) содержание СРБ в крови составило 104,3 (60,3; 176,7) мг/л, без достоверных различий с 4 этапом, $p = 0,88$. Через 155 (148; 161) часов после вмешательства (6

этап) СРБ был достоверно меньше, чем на 5 этапе – 94,2 (10,5; 156,5) мг/л, $p=0,007$. Через 226 (220; 233) часов после операции (7 этап исследования) СРБ в общей группе пациентов с ЧМТ оставался выше референтных значений без достоверной разницы с 6 этапом и составил 84 (11; 132,8) мг/л, $p=0,28$. Динамика содержания СРБ в сыворотке венозной крови в общей группе пациентов с ЧМТ представлена на рисунке 1.

Статистически значимых различий в содержании СРБ в сыворотке венозной крови между группой пациентов с общей анестезией и груп-

пой пациентов с комбинированной анестезией не выявили ни на одном из этапов исследования ($p>0,05$).

Между группами пациентов с тяжелой и средней ЧМТ выявили достоверные отличия в оценках по ШКГ и АРАСНЕ II, объемом внутричерепных гематом, интраоперационной кровопотерей, смещению срединных структур головного мозга, времени продленной ИВЛ, неблагоприятным исходом лечения. Характеристика групп пациентов с ЧМТ в зависимости от тяжести состояния приведена в таблице 2.

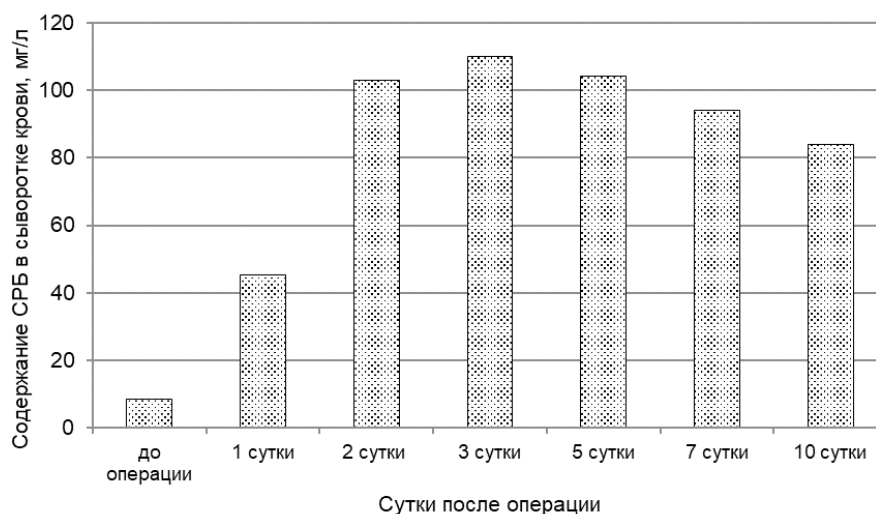


Рисунок 1 – Динамика содержания С-реактивного белка в сыворотке крови в общей группе пациентов с черепно-мозговой травмой.

Таблица 2 – Характеристика пациентов с тяжелой и средней черепно-мозговой травмой, Me (LQ; UQ)

Показатель	Тяжелая ЧМТ, n=21	Среднетяжелая ЧМТ, n= 27	p
Пол, муж/жен	18/3	23/4	0,97 ¹
Возраст, лет	55 (46; 59)	53 (37; 61)	0,77 ²
Масса тела, кг	78 (71; 80)	77 (70; 85)	0,98 ²
ШКГ, баллы	6 (5; 7)	14 (12; 15)	0,000001 ²
АРАСНЕ II, баллы	16 (15; 18)	7,5 (3; 10)	0,000001 ²
Трепанация резекционная/костнопластическая	2/19	5/22	0,44 ¹
Анестезия общая/комбинированная	11/10	16/11	0,63 ³
Объем внутричерепной гематомы, мл	122, (105,5; 151)	64,3 (43,5; 77)	0,001 ²
Смещение срединных структур головного мозга, мм	9,5 (7; 13)	2,5 (0; 6)	0,004 ²
Наличие ушиба головного мозга	16	14	0,13 ¹
Кровопотеря, мл	651 (374; 851)	325 (250; 440)	0,006 ²
Продленная ИВЛ, час	255 (131; 406)	0 (0; 14)	0,001 ²
Летальный исход, случаи	12	2	0,001 ¹
Исход благоприятный/неблагоприятный	4/17	25/2	0,001 ¹

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

Таблица 3 – Содержание С-реактивного белка в сыворотке крови у пациентов с тяжелой и средней черепно-мозговой травмой, Me (LQ;UQ)

Этапы исследования	СРБ, мг/л тяжелая ЧМТ, n=21	СРБ, мг/л средняя ЧМТ, n=27	p ¹
1 этап (исходный)	21,2 (2,5; 61,3)	8,5 (6,5; 21,5)	0,93
2 этап	50,5 (17,6; 95)	39 (9,3; 56,1)	0,27
3 этап	105 (98; 114,8)	91,6 (44,6; 152,9)	0,23
4 этап	105,8 (97,4; 120,8)	108,4 (25,9; 125,1)	0,71
5 этап	108,8 (103,4; 187,6)	38,8 (27,2; 78,5)	0,001
6 этап	104,8 (90,8; 174,5)	10,5 (3,8; 25,9)	0,002
7 этап	107,1 (83,4; 144,6)	11,0 (5,5; 84,5)	0,008

Примечание: 1 – для статистического анализа использован критерий Манна-Уитни.

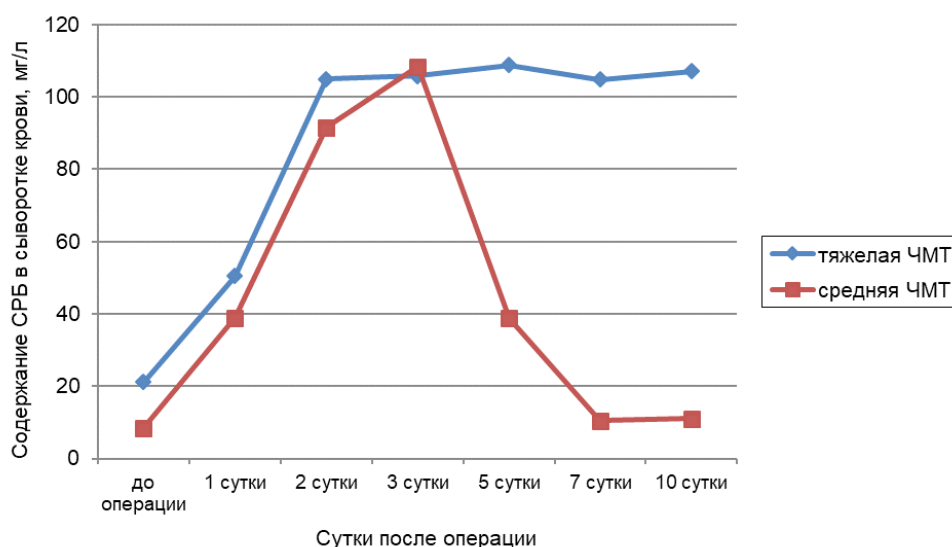


Рисунок 2 – Динамика содержания С-реактивного белка в сыворотке крови у пациентов с тяжелой и средней черепно-мозговой травмой.

Статистически значимые различия содержания СРБ сыворотки крови между группами пациентов с тяжелой и средней ЧМТ выявили на 5, 6 и 7 этапах исследования (табл. 3, рис. 2). Так, исходный уровень СРБ в группе пациентов с тяжелой ЧМТ был 21,2 (2,5; 61,3) мг/л, а в группе пациентов со средней ЧМТ – 8,5 (6,5; 21,5) мг/л, $p=0,93$. На 2 этапе исследования у пациентов с тяжелой ЧМТ СРБ был 50,5 (17,6; 95) мг/л, а у пациентов со средней ЧМТ – 39 (9,3; 56,1) мг/л, $p=0,27$. На 3 этапе у пациентов с тяжелой ЧМТ СРБ был 105 (98; 114,8) мг/л, а у пациентов со средней ЧМТ – 91,6 (44,6; 152,9) мг/л, $p=0,23$. На 4 этапе у пациентов с тяжелой ЧМТ СРБ был 105,8 (97,4; 120,8) мг/л, а у пациентов со средней ЧМТ – 108,4 (25,9; 125,1) мг/л, $p=0,71$. На 5 этапе у пациентов с тяжелой ЧМТ СРБ был 108,8 (103,4; 187,6) мг/л, а со средней ЧМТ – 38,8 (27,2; 78,5) мг/л, $p=0,001$. На 6 этапе у пациентов с тяжелой ЧМТ СРБ был 104,8 (90,8; 174,5) мг/л, а со

средней ЧМТ – 10,5 (3,8; 25,9) мг/л, $p=0,002$. На 7 этапе у пациентов с тяжелой ЧМТ СРБ был 107,1 (83,4; 144,6) мг/л, а у пациентов со средней ЧМТ – 11,0 (5,5; 84,5) мг/л, $p=0,008$.

В общей группе пациентов с ЧМТ благоприятный исход выявили у 29 (60,5%) пациентов, а неблагоприятный у 19 (39,5%) пациентов. В группе пациентов с тяжелой ЧМТ неблагоприятный исход отметили в 17 (80,9%) случаях, 12 (57,1%) из которых были летальными: 5 пациентов умерли в течение первой недели после операции, а 7 пациентов умерли в течение 3 месяцев после нейрохирургического вмешательства. У 5 пациентов с тяжелой ЧМТ через 6 месяцев после операции оценка по ШИГ была < 4 баллов. В группе пациентов со средней ЧМТ неблагоприятный исход был в 2 (7,4%) случаях: 2 пациента старше 70 лет со средней ЧМТ умерли через месяц после операции. Оба пациента имели тяжелую сопутствующую патологию – хроническую сердечную недостаточ-

ность, артериальную гипертензию, у одного из них был сахарный диабет.

Содержание СРБ в сыворотке крови у пациентов с неблагоприятным исходом было достоверно больше на 5-7 этапах исследования в отличие от пациентов с благоприятным исходом, $p < 0,05$. На 1-4 этапах исследования достоверных различий в содержании СРБ сыворотки крови между пациентами с благоприятным и неблагоприятным исходами не выявили, $p > 0,05$. Так, на 5 этапе исследования содержание СРБ у пациентов с благоприятным исходом было 62,4 (29,1; 106,8) мг/л, а с неблагоприятным исходом – 108,2 (104,3; 186,1) мг/л, $p = 0,01$. На 6 этапе исследования содержание СРБ у пациентов с благоприятным исходом было 19,3 (4,4; 121,6) мг/л, а с неблагоприятным исходом – 104,9 (90,8; 170,3) мг/л, $p = 0,02$. На 7 этапе исследования содержание СРБ у пациентов с благоприятным исходом составило 11,2 (5,5; 84,5) мг/л, а с неблагоприятным исходом – 111,6 (90,4; 226,1) мг/л, $p = 0,001$.

Для содержания СРБ на 5-7 этапах исследования как предиктора неблагоприятного исхода лечения пациентов с ЧМТ рассчитали коэффициенты моделей логистической регрессии с построением ROC-кривых. Чувствительность СРБ на 5 этапе исследования для прогноза неблагоприятного исхода была 38%, специфичность – 81%, AUC – 0,78. Чувствительность СРБ на 6 этапе исследования для неблагоприятного исхода была 50%, специфичность – 75%, AUC – 0,75.

Чувствительность СРБ на 7 этапе исследования для неблагоприятного исхода была 69%, специфичность – 80%, AUC – 0,85 (рис. 3). Для всех моделей логистической регрессии достигнут уровень значимости $p < 0,05$ для статистики χ^2 и $p > 0,05$ для критерия Хосмера-Лемешова. Лучшим предиктором неблагоприятного исхода лечения пациентов с ЧМТ был выявлен уровень СРБ на 10 сутки после краниотомии.

Для проверки гипотезы о наличии связи между уровнями СРБ на всех этапах исследования и объемом внутримозговой гематомы, объемом кровопотери во время операции, смещением срединных структур головного мозга, наличием ушиба головного были вычислены коэффициенты корреляции Спирмена. Статистически значимых связей между содержанием СРБ в сыворотке крови и вышеперечисленными параметрами обнаружено не было, $p > 0,05$.

Обсуждение

Наше исследование продемонстрировало на всех этапах повышенное содержание СРБ в периоперационном периоде у пациентов с черепно-мозговой травмой. Максимальное содержание СРБ в сыворотке крови у пациентов с ЧМТ выявили через 60 (52; 65) часов после операции – 110 (90,7; 171) мг/л. У пациентов с ЧМТ, у которых при поступлении оценка по ШКТГ была ≥ 10 баллов, через 108 (100; 113) часов после операции

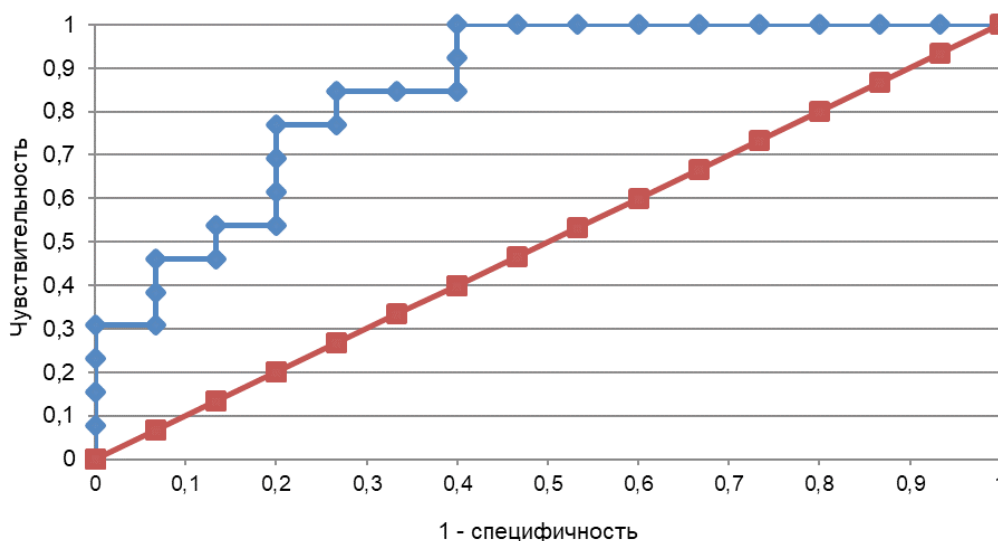


Рисунок 3 – ROC-кривая: содержание С-реактивного белка на 10 сутки после операции как предиктор неблагоприятного исхода лечения пациентов с черепно-мозговой травмой. AUC 0,85; PPV 0,75; PNV 0,75.

отметили уменьшение содержания в сыворотке крови СРБ, которое через 226 (220;233) часов после краниотомии составило 11,0 (5,5; 84,5) мг/л. У пациентов с оценкой по ШКТ ≤ 9 баллам, а также у пациентов с неблагоприятным исходом лечения на 3-7 этапах исследования содержание СРБ в сыворотке крови превышало 100 мг/л и спустя 226 (220; 233) часов после операции составило 107-111 мг/л. Начиная с 5 суток (через 108 (100;113) часов) после краниотомии выявили достоверную положительную связь между содержанием СРБ и неблагоприятным исходом лечения. Значимых различий в периоперационном содержании СРБ между группами пациентов с общей и комбинированной анестезиями не выявили.

Д.В. Вялов и соавторы у 49 пациентов с тяжелой ЧМТ отметили незначительное увеличение содержания СРБ с максимальным его значением на 7-9 сутки после операции (не больше чем в 7,9 раза по сравнению с референтными значениями) и связали это с ограничивающим действием гематоэнцефалического барьера на очаг повреждения головного мозга [5]. Однако Н.Н. Елифанцева и соавторы у 66 пациентов с тяжелой ЧМТ на 7-9 сутки после травмы выявили значительное увеличение (в 10-20 раз) СРБ [13]. В нашем исследовании начиная с 5 суток после операции в группе пациентов со средней ЧМТ отметили значительное снижение уровня СРБ. В то же время в группе пациентов с тяжелой ЧМТ с 5 по 10 сутки после краниотомии уровень СРБ превышал верхнюю границу референтных значений более чем в 20 раз.

Р.С. Sun и соавторы провели исследование, в котором у 57 пациентов с ЧМТ оценивали исходный уровень СРБ, а также его значения на 1, 2, 3 и 7 сутки от поступления пациента в стационар. Авторы выявили максимальное содержание СРБ на 3 сутки нахождения в больнице. Также ими была выявлена высокая чувствительность (89,1%) и специфичность (68,2%) значений СРБ в определении повреждения головного мозга у пациентов с ЧМТ [11]. О.Согут и соавторы через 12 часов от травмы головы выявили значимую разницу в содержании СРБ между умершими и выжившими пациентами, а также обнаружили прямую достоверную корреляцию между уровнем СРБ и тяжестью течения ЧМТ [15]. В нашем исследовании выявили значимо большее содержание СРБ на 5, 7 и 10 сутки после операции в группе пациентов с тяжелой ЧМТ в сравнении с группой пациентов со средней ЧМТ. Также мы

выявили, что значения СРБ с 5 суток (через 108 (100; 113) часов) после операции обладают достоверной прогностической способностью развития неблагоприятного исхода лечения ЧМТ.

Р.С. Moharagi и соавторы провели исследование, в котором у 40 пациентов оценили содержание СРБ в зависимости от способа анестезии при плановых краниотомиях. В одной группе пациентов провели общую анестезию с инфильтрацией места разреза 20 мл раствора натрия хлорида 0,9%, а в другой применили общую анестезию в сочетании с локорегионарной анестезией 0,5% раствором бупивакаина. Значимых различий в содержании СРБ между двумя группами пациентов не выявили [7]. В нашем исследовании оперативные вмешательства проводили в экстренном или срочном порядке. Мы также не выявили достоверной разницы в содержании СРБ между группами пациентов в зависимости от способа обезболивания.

Нами не было выявлено значимой корреляции между периоперационным содержанием СРБ и такими показателями, как объем внутричерепной гематомы, кровопотеря во время операции, смещение срединных структур головного мозга, наличие ушиба головного мозга.

Заключение

1. У пациентов, прооперированных по причине черепно-мозговой травмы, в предоперационном периоде, а также в течение 10 суток после операции отметили повышенное содержание СРБ с максимальным его значением через 60 (52; 65) часов после вмешательства – 110 (90,7; 171) мг/л.

2. Достоверные различия в содержании СРБ в сыворотке крови между пациентами с тяжелой и средней ЧМТ выявили через 108 (100; 113) часов после операции (на 5, 7 и 10 сутки после краниотомии).

3. У пациентов с ЧМТ на 5 сутки после операции (через 108 (100; 113) часов) СРБ обладает достоверной прогностической способностью развития неблагоприятного исхода лечения.

Финансирование. В исследовании использованы средства гранта Президента Республики Беларусь.

Financing. To conduct the study the grant sources of the President of the Republic of Belarus were used.

Литература

1. Вельков, В. В. С-реактивный белок в лабораторной диагностике острых воспалений и в оценке рисков сосудистых патологий / В. В. Вельков // Клинико-лаб. консилиум. – 2008. – № 2. – С. 37–48.
2. Serum levels of selenium and C-reactive protein in comatose patients with severe traumatic brain injury during the first week of hospitalization: case-control study / B. Belatar [et al.] // Pan. Afr. Med. J. – 2018 Jan. – Vol. 29. – P. 36.
3. Точило, С. А. Скрининговые критерии полиорганной недостаточности после абдоминальных операций (клиническое исследование) / С. А. Точило, А. В. Марочков, В. А. Ливинская // Общая реаниматология. – 2019. – Т. 15, № 3. – С. 61–72.
4. Kolomachenko, V. I. C-reactive protein level in plasma and drainage blood depends on the method of anaesthesia and post-operative analgesia after hip surgery / V. I. Kolomachenko // Anaesthesiol. Intensive Ther. – 2018. – Vol. 50, N 2. – P. 117–121.
5. Вялов, Д. В. Особенности системного воспалительного ответа при черепно-мозговой травме / Д. В. Вялов, Н. В. Никифорова, Ю. А. Чурляев // Общая реаниматология. – 2007. – Т. 3, № 5/6. – С. 29–32.
6. Serum CRP and IL-6 levels after trauma. Not predictive of septic complications in 31 patients / P. V. Giannoudis [et al.] // Acta Orthop. Scand. – 1998 Apr. – Vol. 69, N 2. – P. 184–188.
7. Impact of subcutaneous infiltration of 0.5% bupivacaine on postoperative C-reactive protein serum titer after craniotomy surgery / R. S. Moharari [et al.] // Med. J. Islam Repub. Iran. – 2013 Feb. – Vol. 27, N 1. – P. 1–6.
8. Bomba, G. High serum C-reactive protein as predictor of systemic inflammatory response syndrome in severe head injury patients / G. Bomba, S. Maliawan, T. Mahadewa // Bali Med. J. – 2013. – Vol. 2, N 1. – P. 38–41. No.1
9. A blood-based biomarker panel to risk-stratify mild traumatic brain injury / R. Sharma [et al.] // PLo SONE. – 2017 Mar. – Vol. 12, N 3. – P. 1–18.
10. Elevated C-reactive protein levels may be a predictor of persistent unfavourable symptoms in patients with mild traumatic brain injury: a preliminary study / S.-H. Su [et al.] // Brain. Behav. Immun. – 2014 May. – Vol. 38. – P. 111–117.
11. An investigation on correlation of severity of brain injury with the expression of activin A and C-reactive protein / R.-Q. Sun [et al.] // Zhonghua Wei Zhong Bing Ji Jiu Yi Xue. – 2013 Nov. – Vol. 25, N 11. – P. 681–685.
12. Нейрогуморальный ответ в остром периоде тяжелой черепно-мозговой травмы / Л. М. Ценципер [и др.] // Анестезиология и реаниматология. – 2017. – Т. 62, № 3. – С. 205–209.
13. Эндогенная интоксикация при легочных осложнениях у больных с тяжелой черепно-мозговой травмой / Н. Н. Елифанцева [и др.] // Общая реаниматология. – 2008. – Т. 4, № 3. – С. 36–43.
14. A review of scalp blockade for cranial surgery / A. Papangelou [et al.] // J. Clin. Anesth. – 2013 Mar. – Vol. 25, N 2. – P. 150–159.
15. Trauma scores and neuron-specific enolase, cytokine and c-reactive protein levels as predictors of mortality in patients with blunt head trauma / O. Sogut [et al.] // J. Int. Med. Res. – 2010 Sep-Oct. – Vol. 38, N 5. – P. 1708–1720.

Поступила 17.03.2020 г.

Принята в печать 01.06.2020 г.

References

1. Vel'kov VV. C-reactive protein in the laboratory diagnosis of acute inflammation and in assessing the risks of vascular pathologies. Kliniko-Lab Konsilium. 2008;(2):37-48. (In Russ.)
2. Belatar B, Laidi F, El Abidi A, Eljaoudi R, Mamouch F, Kabbaj S, et al. Serum levels of selenium and C-reactive protein in comatose patients with severe traumatic brain injury during the first week of hospitalization: case-control study. Pan Afr Med J. 2018 Jan;29:36. doi: 10.11604/pamj.2018.29.36.10945
3. Tochilo SA, Marochkov AV, Livinskaya VA. Screening criteria for multiple organ failure after abdominal surgery (clinical trial). Obshchaia Reanimatologiya. 2019;15(3):61-72. (In Russ.)
4. Kolomachenko VI. C-reactive protein level in plasma and drainage blood depends on the method of anaesthesia and post-operative analgesia after hip surgery. Anaesthesiol Intensive Ther. 2018;50(2):117-121. doi: 10.5603/AIT.2018.0018
5. Vyalov DV, Nikiforova NV, Churlyayev YuA. Features of a systemic inflammatory response in traumatic brain injury. Obshchaia Reanimatologiya. 2007;3(5-6):29-32. (In Russ.)
6. Giannoudis PV, Smith MR, Evans R, Bellamy MC, Guillou PJ. Serum CRP and IL-6 levels after trauma. Not predictive of septic complications in 31 patients. Acta Orthop Scand. 1998 Apr;69(2):184-8. doi: 10.3109/17453679809117625
7. Moharari RS, Zade SA, Etezadi F, Najafi A, Khajavi MR, Bidabadi MS, et al. Impact of subcutaneous infiltration of 0.5% bupivacaine on postoperative C-reactive protein serum titer after craniotomy surgery. Med J Islam Repub Iran. 2013 Feb;27(1):1-6.
8. Bomba G, Maliawan S, Mahadewa T. High serum C-reactive protein as predictor of systemic inflammatory response syndrome in severe head injury patients. Bali Med J. 2013;2(1):38-41. doi: 10.15562/bmj.v2i1.37.1
9. Sharma R, Rosenberg A, Bennett ER, Laskowitz DT, Acheson SK. A blood-based biomarker panel to risk-stratify mild traumatic brain injury. PLoS One. 2017 Mar;12(3):e0173798. doi: 10.1371/journal.pone.0173798
10. Su S-H, Xu W, Li M, Zhang L, Wu Y-F, Yu F, et al. Elevated C-reactive protein levels may be a predictor of persistent unfavourable symptoms in patients with mild traumatic brain injury: a preliminary study. Brain Behav Immun. 2014 May;38:111-7. doi: 10.1016/j.bbi.2014.01.009
11. Sun R-Q, Shi X-Y, Yang H-F, Hao Q-M, Zhu L-C, Liu Q-L, et al. An investigation on correlation of severity of brain injury with the expression of activin A and C-reactive protein. Zhonghua Wei Zhong Bing Ji Jiu Yi Xue. 2013 Nov;25(11):681-5. doi: 10.3760/cma.j.isn.2095-4352.2013.11.011
12. Tsentsiper LM, Dryagina NV, Rummyantseva MV, Aybazova MI, Nazarov RV, Ulitin AYU, i dr. Neurohumoral response

- in the acute period of severe traumatic brain injury. *Anesteziologiya Reanimatologiya*. 2017;62(3):205-9. (In Russ.)
13. Epifantseva NN, Borshchikova TI, Churlyayev YuA, Dantsiger DG, Nikiforova NV, Kheringson LG. Endogenous intoxication in pulmonary complications in patients with severe traumatic brain injury. *Obshchaia Reanimatologiya*. 2008;4(3):36-43. (In Russ.)
14. Papangelou A, Radzik BR, Smith T, Gottschalk A. A review of scalp blockade for cranial surgery. *J Clin Anesth*. 2013 Mar;25(2):150-9. doi: 10.1016/j.jclinane.2012.06.024
15. Sogut O, Guloglu C, Orak M, Sayhan MB, Gokdemir MT, Ustundag M, et al. Trauma scores and neuron-specific enolase, cytokine and c-reactive protein levels as predictors of mortality in patients with blunt head trauma. *J Int Med Res*. 2010 Sep-Oct;38(5):1708-20. doi: 10.1177/147323001003800516

Submitted 17.03.2020

Accepted 01.06.2020

Сведения об авторах:

Маркевич Д.П. – заведующий отделением анестезиологии и реанимации, Могилевская городская больница скорой медицинской помощи,

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1117-3877>;

Марочков А.В. – д.м.н., профессор, врач анестезиолог-реаниматолог, отделение анестезиологии и реанимации, Могилевская областная больница,

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5092-8315>;

Ливинская В.А. – к.физ.-мат.н., доцент кафедры «Финансы и бухгалтерский учет», Белорусско-Российский университет,

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8953-8533>.

Information about authors:

Markevich D.P. – head of the anesthesiology and intensive care department, Mogilev Emergency City Hospital,

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1117-3877>;

Marochkov A.V. – Doctor of Medical Sciences, professor, anesthesiologist-resuscitator, the anesthesiology & resuscitation department, Mogilev Regional Hospital,

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5092-8315>;

Livinskaya V.A. – Candidate of Physical and Mathematical Sciences, associate professor of the Chair «Finance & Accounting», Belarusian-Russian University,

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8953-8533>.

Адрес для корреспонденции: Республика Беларусь, 212030, г. Могилев, ул. Боткина, д. 2, Могилевская городская больница скорой медицинской помощи, отделение анестезиологии и реанимации. E-mail: snyter1977@gmail.com – Маркевич Денис Петрович.

Correspondence address: Republic of Belarus, 212030, Mogilev, 2 Botkin str., Mogilev Emergency City Hospital, anesthesiology and intensive care department. E-mail: snyter1977@gmail.com – Denis P. Markevich.

ПРОГНОЗИРОВАНИЕ ТЯЖЕЛОГО ТЕЧЕНИЯ ЗАБОЛЕВАНИЯ У ПАЦИЕНТОВ С ВИРУСНЫМИ ПНЕВМОНИЯМИ, ПРЕДПОЛОЖИТЕЛЬНО ВЫЗВАННЫМИ COVID-19

ПРИЩЕПЕНКО В.А., ЮПАТОВ Г.И., ОКУЛИЧ В.К.

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

Вестник ВГМУ. – 2020. – Том 19, №3. – С. 69-78.

PROGNOSTICATION OF THE SEVERE DISEASE COURSE IN PATIENTS WITH VIRAL PNEUMONIA PRESUMABLY CAUSED BY COVID-19

PRYSHCHEPENKA V.A., YUPATAU H.I., OKULICH V.K.

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

Vestnik VGMU. 2020;19(3):69-78.

Резюме.

Цель работы – оценка вероятности тяжелого течения заболевания и потребности в кислородной поддержке у пациентов с вирусными пневмониями, предположительно вызванными вирусом COVID-19, при поступлении пациента в организацию здравоохранения для решения вопроса о перераспределении потоков пациентов в организациях здравоохранения.

Материал и методы. Было проведено динамическое наблюдение за 81 пациентом с легким и среднетяжелым течением вирусной пневмонии, а также 43 пациентами с тяжелым течением, потребовавшим кислородной поддержки и интенсивной терапии.

Результаты. У пациентов с тяжелым течением вирусной пневмонии выявлены относительная и абсолютная лимфопения, относительный и абсолютный нейтрофилез со сдвигом лейкоцитарной формулы влево, повышение уровня СОЭ, гипопропротеинемия, гипергликемия, повышение уровней АСТ, АЛТ, креатинфосфокиназы-МВ, ЛДГ, мочевины, креатинина, электролитные нарушения) по сравнению с пациентами с легким и среднетяжелым течением заболевания ($p < 0,05$). Возраст пациентов с тяжелым течением заболевания 45 лет и старше ($p < 0,05$). Кроме того, у пациентов с двусторонним поражением легких чаще наблюдалось тяжелое течение заболевания ($p < 0,05$). На основании установленных данных была разработана шкала оценки вероятности течения вирусной пневмонии, которая позволяет спрогнозировать развитие тяжелого течения заболевания с необходимостью интенсивной терапии и продолжительной кислородной поддержки в виде инсуффляции кислорода через лицевую маску или ИВЛ в течение первых 6 суток от поступления в больницу (ог – 133,1, чувствительность – 92,11; специфичность – 91,25; $p < 0,0001$).

Заключение. Шкала оценки вероятности тяжелого течения заболевания позволит выявить тяжелых пациентов, перераспределять потоки пациентов между организациями здравоохранения, оценить необходимость свободных мест в «кислородных палатах» и/или отделении интенсивной терапии.

Ключевые слова: вирусная пневмония, COVID-19, прогноз, SARS-Covid, тяжелая пневмония.

Abstract:

Objectives. To assess the likelihood of a severe course of the disease and the need for oxygen support in patients with viral pneumonia, presumably caused by the COVID-19 virus, when a patient is admitted to a healthcare organization to solve the issue concerning the redistribution of patients movement in healthcare organizations.

Material and methods. Dynamic monitoring was conducted in 81 patients with mild to moderate viral pneumonia, as well as 43 patients with severe course requiring oxygen support and intensive care.

Results. In patients with severe viral pneumonia, relative and absolute lymphopenia, relative and absolute neutrophilia

with a shift of the leukocyte formula to the left, increased ESR, hypoproteinemia, hyperglycemia, increased levels of AST, ALT, creatine phosphokinase-MV, LDH, urea, creatinine, electrolyte disturbances were revealed compared to patients with mild to moderate disease course ($p < 0.05$). The age of patients with a severe course of the disease was 45 years and older ($p < 0.05$). In addition, patients with bilateral lung damage are more likely to have a severe course of the disease ($p < 0.05$). Based on the established data, a scale for assessing the likelihood of viral pneumonia was developed, which allows to predict the development of a severe course of the disease with the need for intensive therapy and continuous oxygen support in the form of oxygen insufflation through the face mask or a mechanical ventilation during the first 6 days from the admission to the hospital (or – 133.1, sensitivity – 92.11; specificity – 91.25; $p < 0.0001$). Conclusions. The scale for assessing the likelihood of a severe course of the disease will allow to reveal severely ill patients, to redistribute patients' flows between healthcare organizations, and to assess the necessity for vacant beds in the «oxygen chambers» and / or intensive care units.

Key words: viral pneumonia, COVID-19, prognosis, SARS-Covid, severe pneumonia.

Распространение инфекции COVID-19 в 2019-2020 гг. привела к резкому увеличению случаев тяжелых пневмоний и острого респираторного дистресс-синдрома во всем мире. Ежедневно возрастает количество подтвержденных случаев инфекции. Клиническая манифестация COVID-19 похожа на другие респираторные заболевания, такие как грипп и другие коронавирусные инфекции.

Ежедневно возрастающее число случаев заболевания создает большую нагрузку на систему здравоохранения. Не все организации здравоохранения имеют достаточное количество кислородных мест, палаты интенсивной терапии и достаточное количество оборудования для проведения механической вентиляции легких. Для перераспределения потоков пациентов на этапе госпитализации необходимо выявлять пациентов, которые в будущем потребуют кислородной поддержки. Это позволит выявлять и направлять для госпитализации пациентов, которые должны быть госпитализированы в больницы, имеющие достаточное количество мест в отделениях интенсивной терапии, а также снизить количество перемещений таких пациентов между разными организациями здравоохранения. В то же время, прогнозирование позволит выявить пациентов, которые не потребуют кислородной терапии, и, возможно, могут проходить лечение в амбулаторных условиях. Снижение нагрузки на больничные организации здравоохранения позволит освободить места для пациентов, которые действительно в них нуждаются [1].

Уже установлено, что наиболее часто тяжелое течение заболевания протекает у пациентов старше 65 лет с наличием сопутствующих заболеваний, таких как бронхиальная астма, хро-

нические заболевания почек, печени, сахарный диабет, ожирение. Также тяжелое заболевание наблюдается у пациентов с иммуносупрессированных пациентов. Однако в клинической практике наблюдаются пациенты, у которых нет выраженной коморбидности, и при этом заболевание протекает тяжело. Такие пациенты нуждаются в кислородной поддержке и/или искусственной вентиляции легких (ИВЛ) [1, 2].

Среди критериев тяжести течения COVID-19 установлены следующие факторы: пожилой возраст, артериальная гипертензия и высокий уровень лактатдегидрогеназы. [2]. Кроме того, у пациентов с COVID-19 наблюдается явление «цитокинового шторма», ведущего к быстрому развитию полиорганной недостаточности. У таких пациентов наблюдаются высокие уровни интерлейкина-10 [3]. РНК вируса методом ПЦР выявляется в среднем на 5-7 сутки с момента поступления пациента в больницу (7-8 сутки от клинической манифестации), что не дает подтвердить диагноз в краткие сроки с момента поступления [4].

Таким образом, использование результатов ПЦР-диагностики COVID-19, сложно выполнимых показателей, таких как интерлейкин-10, для прогнозирования течения заболевания не может быть использовано на ранних этапах. В связи с этим, для врачей-клиницистов становится актуальной задачей поиск простых, легко воспроизводимых маркеров тяжелого течения заболевания, которые можно использовать для быстрой оценки состояния пациента с пневмонией, независимо от этиологии заболевания.

Цель работы – оценка вероятности тяжелого течения заболевания и потребности в кислородной поддержке у пациентов с вирусными

пневмониями, предположительно вызванными вирусом COVID-19, при поступлении пациента в организацию здравоохранения для решения вопроса о перераспределении потоков пациентов в организациях здравоохранения.

Материал и методы

Витебск (Беларусь) начал борьбу с COVID-19 в марте-апреле 2020 года. В статье представлены результаты наблюдения за 124 пациентами с пневмониями вирусной этиологии, проходившими лечение в марте-мае 2020 в следующих больницах: Витебский областной клинический специализированный центр, Витебская городская клиническая больница скорой медицинской помощи, Витебская областная клиническая больница.

В исследование вошли пациенты, имевшие типичные признаки вирусной пневмонии по данным компьютерной томографии (интерстициальная пневмония, «матовое стекло»), не имеющие других острых или обострения хронических заболеваний. Пациенты, вошедшие в исследование, были разделены на две группы: 1 – с лёгким и среднетяжелым течением заболевания, не требующие интенсивной терапии и постоянной кислородной поддержки (кислород-независимые); 2 – пациенты с тяжелым течением, требующие интенсивной терапии и постоянной кислородной поддержки через лицевую маску или ИВЛ (кислород-зависимые).

В первую группу вошёл 81 пациент, из них 35 мужчин, 46 женщин, средний возраст 52,4+13,7. COVID-19 методом ПЦР был подтвержден в 24 (29,6%) случаях.

В группу кислород-зависимых пациентов вошли лица, требующие постоянной оксигенотерапии в виде инсуффляции через лицевую маску или механическую вентиляцию лёгких и в то же время интенсивной терапии. В эту группу вошло 43 пациента, из них 22 мужчины, 21 женщина, средний возраст 60,7+12,1. COVID-19 методом ПЦР был подтвержден в 36 (83,7%) случаев.

Пациентам выполнялось клиническое и лабораторное обследование в соответствии с международными и национальными рекомендациями по диагностике и лечению COVID-19. Среди лабораторных критериев оценивались показатели гематологии, биохимического анализа крови, коагулограммы.

Результаты обрабатывались с помощью па-

кетовпрограмм «Statistica» (Version 10, StatSoft Inc., США, лицензия №СТАФ999К347156W). Поскольку изучаемые показатели имели распределение, отличное от нормального (p для критерия Шапиро-Уилка и Лиллиефорса во всех перечисленных группах $<0,05$), использовались непараметрические методы статистики. Вычисляли медиану (Me), нижний 25-й (LQ) и верхний 75-й квартили (UQ). Данные представляли в виде: Me: LQ-UQ. Достоверность различий оценивалась с использованием критерия Манна-Уитни.

ROC-анализ производился при помощи программы MedCalc Version 11.6.1.0. При этом были определены точки отсечения, область под ROC-кривой (AUC), чувствительность (Se), специфичность (Sp) и отношение шансов (or) методов.

Для оценки эффективности шкалы прогнозирования выполнялся анализ Каплан-Майера.

Результаты

Клиническая характеристика пациентов при поступлении

Результаты исследования показали, что средний возраст пациентов, потребовавших впоследствии интенсивной терапии и/или ИВЛ, выше, чем у пациентов с легким и среднетяжелым течением заболевания, что подтверждается результатами и других исследователей. В нашем исследовании у пациентов старше 44 лет чаще наблюдалось тяжелое течение заболевания (or 18,75 (95% CI: 2,4-144,0); $p<0,05$). Хотя в некоторых исследованиях указывается, что мужской пол является предрасполагающим фактором к тяжелому течению COVID-19 [1, 2], в нашем исследовании различий по полу выявлено не было.

Двустороннее поражение легких по результатам рентгенографии или компьютерной томографии было выявлено у 43 (53,1%) пациентов 1 группы и 35 (81,4%) пациентов 2 группы (or – 3,3 (95% CI: 1,4-7,8); $p<0,05$). Однако наличие только лишь двухстороннего поражения легких, обладая чувствительностью 100% (95% CI: 91,6-100), не специфично (Sp – 0 (95%CI: 0-4,5)) для оценки тяжести состояния пациента.

Те пациенты, у которых результаты ПЦР исследования подтвердили инфекцию, вызванную COVID-19, нуждались в интенсивной терапии чаще, чем пациенты с типичными признаками вирусной пневмонии по результатам КТ, но не подтвержденной лабораторно (or – 12,2 (95% CI: 4,8-31,3); $p<0,001$). Вероятно, это обусловлено

большей вирусной нагрузкой в момент поступления, задержкой сроков госпитализации и, таким образом, пациент выделял достаточное количество вирусной РНК для определения методом ПЦР.

Среди показателей гематологии были выявлены статистически значимые различия двух групп в показателях гемоглобина, лейкоцитов, палочкоядерных, сегментоядерных нейтрофилов, моноцитов и СОЭ (табл. 1, $p < 0,05$). Пациенты, имевшие относительный или абсолютный нейтрофилез выше 65% ($5,4 \cdot 10^9/\text{л}$) (ог – 8,0 (95% CI: 3,3-19,3)), относительное или абсолютное повышение уровня палочкоядерных нейтрофилов

выше 4% ($0,35 \cdot 10^9/\text{л}$) (ог – 4,9 (95% CI: 2,2-10,9)), относительную или абсолютную лимфопению ниже 20,3% ($1,2 \cdot 10^9/\text{л}$) (ог – 16,4 (95% CI: 6,5-41,3) и повышение уровня СОЭ выше 29 (ог – 4,3 (95% CI: 1,9-9,6)) имели более высокую вероятность тяжелого течения пневмонии (табл. 2).

Среди показателей биохимического исследования выявлены статистически значимые различия показателей белка, глюкозы, АСТ, АЛТ, креатинфосфокиназы-МВ, ЛДГ, мочевины, креатинина, электролитов (табл. 1, $p < 0,05$). В группе кислород-зависимых пациентов выявлены следующие изменения, позволяющие сделать прогноз

Таблица 1 – Клинико-лабораторные данные пациентов, включенных в исследование

Показатель	Группа	
	1 Кислород-независимые пациенты	2 Кислород-зависимые пациенты
Общий анализ крови		
Эритроциты, $\times 10^{12}/\text{л}$	4,56: 4,22-4,84	4,4: 3,9-4,8
Гемоглобин, г/л *	138,0: 129,0-148,0	123,0: 102,0-140,0
Тромбоциты, $\times 10^9/\text{л}$	213,0: 179,0-275,0	226,0: 180,0-263,0
Лейкоциты, $\times 10^9/\text{л}$ *	5,88: 4,8-7,2	6,9: 4,9-9,7
Палочкоядерные нейтрофилы, % ($\times 10^9/\text{л}$) *	3,0: 1,0-5,0 (0,17:0,08-0,3)	6,0: 3,5-10,5 (0,38: 0,15-0,73)
Сегментоядерные нейтрофилы, % ($\times 10^9/\text{л}$) *	51,5: 44,0-59,0 (2,85:2,15-3,97)	69,5: 55,0-74,0 (3,69:(2,26-6,73)
Лимфоциты, % ($\times 10^9/\text{л}$) *	33,0: 26,0-40,0 (1,98: 1,43-2,35)	18,0: 9,0-25,0 (1,05:0,59-1,57)
Моноциты, % *	8,0: 5,0-10,0	5,5: 4,0-9,0
СОЭ, мм/ч *	17,0: 8,0-29,0	35,5: 17,0-47,5
Биохимический анализ крови		
Белок общий, г/л *	66,0: 63,0-72,0	62,0: 54,5-66,5
Глюкоза, ммоль/л *	5,2: 4,9-5,7	6,3: 5,8-7,8
Билирубин общий, мкмоль/л	11,6: 9,8-14,7	12,2: 9,7-16,7
Билирубин прямой, мкмоль/л	2,9: 2,4-4,2	1,1: 0,3-6,4
Мочевина, ммоль/л *	4,3: 3,5-5,1	6,8: 5,2-9,4
Креатинин, мкмоль/мл *	0,088: 0,075-0,102	0,095: 0,08-0,15
АСТ, Е/л *	19,0: 14,0-29,0	46,0: 38,8-73,0
АЛТ, Е/л *	18,0: 12,0-32,0	40,0: 26,2-65,4
КФК, Е/л	103,0: 43,0-286,0	103,7: 33,0-287,0
КФК МВ, Е/л *	4,9: 2,0-9,5	38,0: 24,2-42,0
ЛДГ, Е/л *	234,0: 192,0-295,0	1240,5: 553,0-2012,0
Калий, ммоль/л *	4,7: 4,2-5,0	4,3: 4,0-4,6
Натрий, ммоль/л	141,0: 140,0-144,0	143,0: 138,0-147,0
Хлор, ммоль/л *	101,0: 99,0-144,0	105,0: 102,0-109,0
СРП, мг/л *	3,7: 1,3-14,1	59,5: 6,0-107,0
Ферритин, мкг/л *	43,3: 32,3-106,6	390,0: 116,0-433,0
Коагулограмма		
АЧТВ, сек	31,5: 28,0-37,0	32,5: 29,2-34,5
ПТИ	0,98: 0,96-1,03	1,0: 0,9-1,1
Фибриноген, г/л	5,4: 4,2-6,8	6,4: 5,1-9,8
Д-димер, нг/мл	305,0: 197,0-525,5	767,5: 311,0-1663,5

Примечание: * достоверность различий – $p < 0,05$.

тяжелого течения заболевания: гипопротейнемия ниже 62,2 г/л – ор – 10,3 (95% CI: 3,1-33,7), гипергликемия выше 5,7 ммоль/л – ор – 4,6 (95% CI: 2,0-10,5), повышение сывороточных уровней АСТ выше 40 Е/л – ор – 13,3 (95% CI: 5,3-33,0), АЛТ выше 40 Е/л – ор – 5,6 (95% CI: 2,3-13,8), ЛДГ выше 313 Е/л – ор – 9,3 (95% CI: 2,8-30,6), мочевины выше 8,1 ммоль/л – ор – 8,4 (95% CI: 2,7-29,7), креатинина выше 0,12 ммоль/л – ор – 15,3 (95% CI: 3,2-72,3), повышение уровня СРП выше 28,8 мг/л – ор – 12,3 (95% CI: 3,7-40,7) и ферритина выше 106,6 мкг/л – ор – 21 (95% CI: 1,5-293,3) (табл. 2).

Показатели коагулограммы не показали статистически значимых различий в данном исследовании (табл. 1).

Таким образом, в приемном отделении при выявлении пациентов с легкой анемией, нейтрофильным лейкоцитозом со сдвигом лейкоцитарной формулы влево, ускорением СОЭ, повышением СРП и ферритина, гипопротейнемией, нарушением углеводного обмена, лабораторными показателями поражения сердца и почек, нарушениями электролитного обмена можно спрогнозировать тяжелое течение заболевания, необходимость свободных мест в «кислородных палатах» и/или отделении интенсивной терапии в ближайшем будущем.

Оценка вероятности тяжёлого течения вирусной пневмонии при поступлении

Наиболее значимые показатели были объ-

единены в шкалу оценки вероятности тяжёлого течения вирусной пневмонии (табл. 3). Шкала позволяет провести выявление пациентов, которые впоследствии будут нуждаться в интенсивной терапии и кислородной поддержке.

Значение итогового балла по шкале оценки вероятности тяжёлого течения пневмонии 4 и более при поступлении пациента в больницу указывает на вероятное тяжелое течение заболевания и необходимость интенсивной терапии в будущем (ор – 133,1 (95% CI 32,7-547,6); AUC 0,955 (95% CI 0,900-0,985); Se – 92,11; Sp – 91,25; p<0,0001, рис. 1).

Для оценки эффективности предложенной шкалы был проведен ретроградный мониторинг течения заболевания с оценкой даты поступления пациента в отделение интенсивной терапии для кислородной поддержки с помощью лицевой маски или ИВЛ.

У 72,5% пациентов с баллом по шкале оценки вероятности тяжёлого течения пневмонии 4 и более необходимость в кислородной поддержке наступает на 1-6 сутки с момента поступления в больницу (рис. 2). Кроме того, более 90% пациентов к 20 суткам от момента поступления нуждались в интенсивной терапии и кислородной поддержке.

3 (4%) пациента с итоговым баллом по предложенной шкале менее 4 нуждались в интенсивной терапии и кислородной поддержке на 1-6 сутки от поступления в больницу. 96% пациентов выписались из больницы до 20 суток наблюде-

Таблица 2 – Уровни лабораторных показателей, указывающие на последующее тяжелое течение вирусной пневмонии

Показатель	Уровень	AUC	Se, %	Sp, %	p
Палочкоядерные нейтрофилы	>4%	0,712 (95%CI: 0,623-0,791)	65,00	71,60	<0,0001
	>0,35 *10 ⁹ /л	0,687 (95%CI 0,598-0,768)	55,81	81,5	<0,001
Сегментоядерные нейтрофилы	>65%	0,766 (95%CI: 0,680-0,838)	60,00	95,00	<0,0001
	>5,4*10 ⁹ /л	0,624 (95% CI 0,533-0,709)	37,2	91,36	<0,05
Лимфоциты	≤20,3%	0,832 (95%CI: 0,753-0,893)	63,41	90,12	<0,0001
	<1,2 *10 ⁹ /л	0,871 (95%CI 0,738-0,881)	67,44	87,65	<0,0001
СОЭ	>29 мм/ч	0,663 (95%CI: 0,572-0,746)	60,00	75,31	0,0032
Белок общий	≤62,2 г/л	0,705 (95%CI: 0,611-0,787)	55,56	86,67	0,0007
Глюкоза	>5,7 ммоль/л	0,804 (95%CI: 0,715-0,874)	77,42	80,00	<0,0001
Мочевина	>8,1 ммоль/л	0,815 (95%CI: 0,733-0,881)	31,71	94,81	<0,0001
Креатинин	>0,12 ммоль/мл	0,621 (95%CI: 0,527-0,709)	30,00	97,40	0,0359
АСТ	>40 Е/л	0,890 (95%CI: 0,819-0,940)	70,00	87,01	<0,0001
АЛТ	>40 Е/л	0,771 (95%CI: 0,684-0,844)	47,50	87,01	<0,0001
ЛДГ	>313 Е/л	0,977 (95%CI: 0,855-1,000)	100,00	84,21	<0,0001
СРП	>28,8 мг/л	0,691 (95%CI: 0,578-0,790)	59,09	89,66	0,0273
Ферритин	>106,6 мкг/л	0,889 (95%CI: 0,634-0,989)	85,71	77,78	<0,0001

Таблица 3 – Шкала оценки вероятности тяжелого течения вирусной пневмонии

≤45 лет	Возраст	>45 лет
0	Балл	1
Одностороннее	Поражение легких	Двухстороннее
0	Балл	1
≤65%*и 5,4*10 ⁹ /л	Уровень сегментоядерных нейтрофилов	>65% или 5,4*10 ⁹ /л
0	Балл	1
≥20% и 1,2*10 ⁹ /л	Уровень лимфоцитов	<20% или 1,2*10 ⁹ /л
0	Балл	1
≤6,1 ммоль/л	Уровень глюкозы	>6,1 ммоль/л
0	Балл	1
Уровень мочевины ≤8,1ммоль/л и креатинина ≤0,12 ммоль/л	Поражение почек	Уровень мочевины >8,1ммоль/л и/или креатинина >0,12 ммоль/л (один из перечисленных)
0	Балл	1
Уровень АСТ ≤40 Е/л и АЛТ ≤40 Е/л и ЛДГ≤300 Е/л	Поражение сердца /печени	Уровень АСТ >40 Е/л и/или АЛТ >40 Е/л и/или ЛДГ>300 Е/л (один из перечисленных)
0	Балл	1

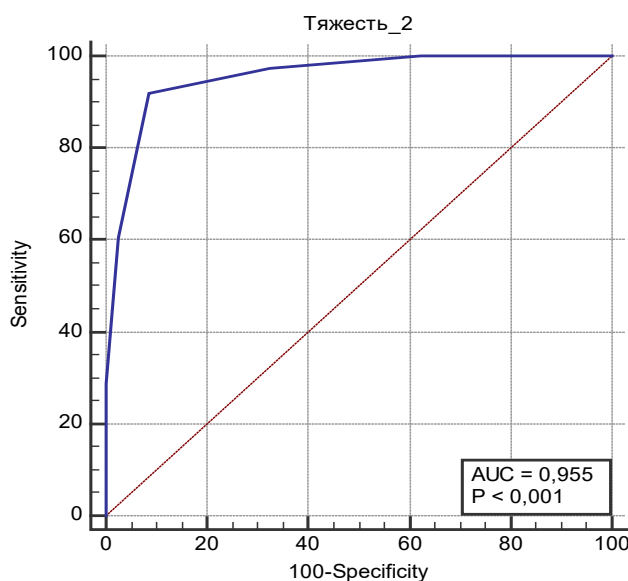


Рисунок 1 – ROC-кривая шкалы оценки вероятности тяжелого течения вирусной пневмонии.

ния, не потребовав оксигенотерапии (рис. 3).

Таким образом, шкала оценки тяжести течения пневмонии помогает с высокой диагностической эффективностью при поступлении пациента в приемное отделение больницы сделать прогноз тяжёлого течения заболевания, необходимости интенсивной терапии и кислородной поддержки с помощью лицевой маски или ИВЛ в течение первых 6 суток лечения.

Обсуждение

В нашем исследовании представлена оценка легкодоступных, хорошо воспроизводимых показателей, которые широко выполняются в лаборатории любого уровня. В то же время предложенные показатели хорошо отражают изменения со стороны системы иммунитета, сердца, почек не только при COVID-19, но и при других забо-

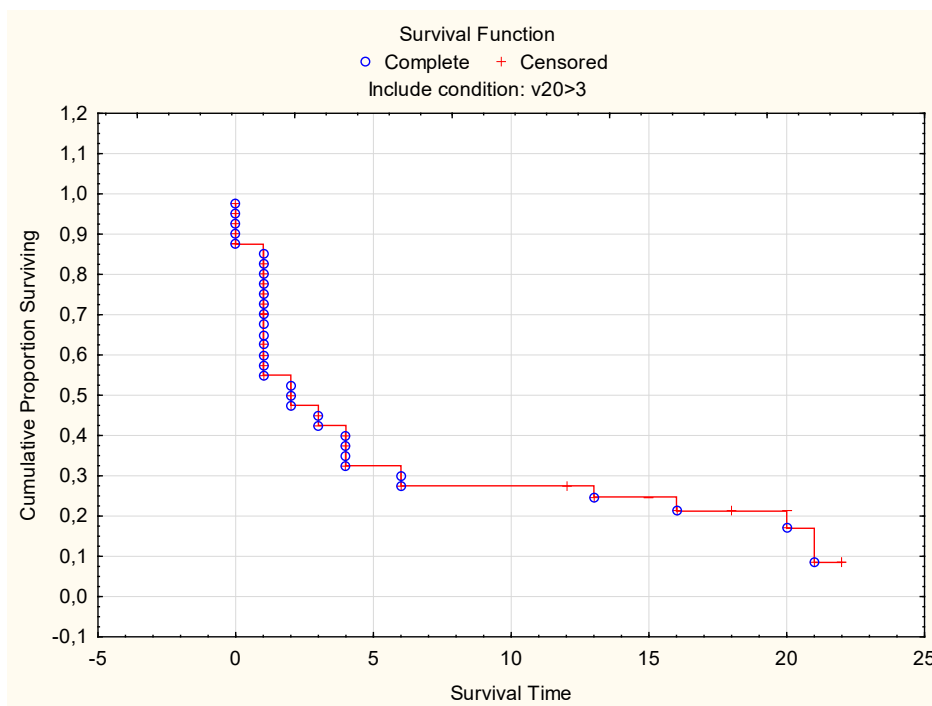


Рисунок 2 – Кривая Каплан-Майера для пациентов с баллом по шкале оценки вероятности тяжелого течения вирусной пневмонии 4 и выше: полные наблюдения – пациенты, поступившие в отделение интенсивной терапии; цензурированные наблюдения – выписанные пациенты.

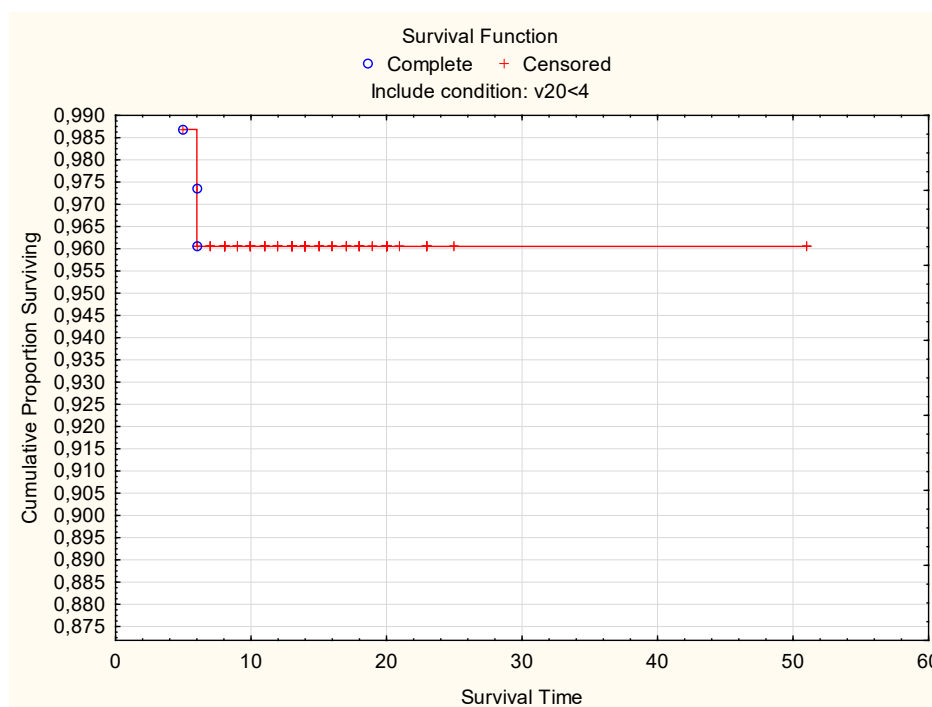


Рисунок 3 – Кривая Каплан-Майера для пациентов с баллом по шкале оценки вероятности тяжелого течения вирусной пневмонии меньше 4: полные наблюдения – пациенты, поступившие в отделение интенсивной терапии; цензурированные наблюдения – выписанные пациенты.

леваниях. В то же время имеются некоторые особенности реакций со стороны системы иммунитета и поражений внутренних органов [5].

Инфекция COVID-19 стимулирует высво-

бождение большого количества провоспалительных цитокинов, а именно IL-6, IFN γ , MCP1, IL-10 и других, что приводит к так называемому «цитокиновому шторму» и развитию симптомов сеп-

сиса. Кроме того, неконтролируемое воспаление способствует прогрессированию полиорганной недостаточности, являющейся основной причиной смерти пациентов с COVID-19 [3].

Дисфункция системы иммунитета зачастую наблюдается у пациентов пожилого возраста, что объясняет высокий риск тяжелого течения заболевания и смертности у пациентов старше 60 лет [1, 2]. Однако наше исследование показало, что тяжелое течение заболевания развивается не только у пациентов пожилого возраста, но и у лиц старше 44 лет. Вероятно, это связано как с наличием избыточного веса, не выявленным ранее нарушением толерантности к глюкозе и другими проявлениями метаболического синдрома.

Площадь поражения легких является несомненным фактором риска тяжелого течения заболевания, однако при этом самостоятельно не указывает на тяжесть заболевания, а лишь является дополнительным фактором, способствующим развитию острого респираторного дистресс синдрома (ОРДС). В то же время тяжелое течение заболевания связано не только с поражением легких, но и с развитием полиорганной недостаточности [5].

IL-6, IFN γ , MCP1, IL-10 являются показателями иммунного ответа по пути Т-хелперов 1 типа, направленного на привлечение моноцитов и лимфоцитов в очаг воспаления. Кроме того, прямое вирулицидное действие Т-лимфоцитов обуславливает их дефицит в периферической крови. Это объясняет лимфопению и относительный нейтрофилез у пациентов с пневмониями, вызванными COVID-19 [3, 6]. По данным различных авторов, лимфопения и нарушение соотношения лимфоцитов и нейтрофильных клеток наблюдаются в 80% случаев COVID-19 [7, 8]. В нашем исследовании лимфопения и относительный нейтрофилез являлись факторами риска тяжелого течения заболевания.

Развивающееся истощение факторов местного иммунитета, повреждение легких провоспалительными цитокинами ведут к повышению чувствительности легочной ткани к бактериальной инфекции, на что указывают абсолютный нейтрофилез со сдвигом лейкоцитарной формулы влево у пациентов, нуждавшихся в интенсивной терапии.

Сахарный диабет является установленным фактором риска, обуславливающим тяжесть течения заболевания. Однако в нашем исследовании было установлено повышение уровня глюкозы у

пациентов, не имевших ранее сахарного диабета [1, 2]. При этом повышенный уровень глюкозы в сыворотке крови является фактором тяжелого течения заболевания. Вероятно, это связано с не выявленным нарушением толерантности к глюкозе у этой категории пациентов. Кроме того, возможны механизмы повреждения поджелудочной железы у пациентов с развивающейся полиорганной недостаточностью. Однако других показателей повреждения поджелудочной железы, таких как повышение уровня альфа-амилазы, выявлено не было.

Поражение почек у пациентов с COVID-19 связано с нарушением регуляции ренин-ангиотензин-альдостероновой системы (РААС). Дисфункция РААС проявляется нарушениями водно-электролитного баланса и повышением артериального давления [3]. Кроме того, иммунное повреждение почек может приводить к острой почечной недостаточности (ОПН), которая приводила к смерти более чем в 90% случаев [9]. Основные проявления ОПН заключались в повышении уровня креатинина, мочевины сыворотки крови, олиго- или анурией, водноэлектролитными нарушениями. Среди перечисленных показателей в нашем исследовании наиболее чувствительными в прогнозировании тяжести течения заболевания являлись уровни мочевины и/или креатинина сыворотки крови.

Важным фактором течения COVID-19 является поражение миокарда различной степени. Вероятный механизм повреждения сердца связан с воздействием вируса через ACE2 рецепторы, а также «цитокиновым штормом» [3]. Дисфункция и повреждение миокарда проявляются лабораторно повышением уровней трансаминаз, ЛДГ, КФК, КФК МВ и кардиоспецифического тропонина I [5]. Все перечисленные показатели имели равную чувствительность в прогнозе течения заболевания. Кроме того, повышенные уровни трансаминаз и ЛДГ могут указывать на повреждение гепатоцитов с развитием синдрома цитолиза как проявление полиорганной недостаточности. Однако уровень билирубина у пациентов с COVID-19 оставался в пределах нормальных значений.

Таким образом, предложенная нами шкала оценки вероятности тяжелого течения заболевания, обладая высокими статистическими показателями, может использоваться для быстрой оценки состояния пациента при поступлении в организацию здравоохранения.

Заключение

У пациентов с тяжелым течением вирусной пневмонии, потребовавших интенсивной терапии и продолжительной кислородной поддержки, наблюдаются выраженные изменения в общем анализе крови (относительная и абсолютная лимфопения, относительный и абсолютный нейтрофилез со сдвигом лейкоцитарной формулы влево, повышение уровня СОЭ), а также в биохимическом анализе крови (гипопротеинемия, гипергликемия, повышение уровней АСТ, АЛТ, креатинфосфокиназы-МВ, ЛДГ, мочевины, креатинина, электролитные нарушения) по сравнению с пациентами с легким и среднетяжелым течением заболевания ($p < 0,05$). Возраст пациентов с тяжелым течением заболевания 45 лет и старше ($p < 0,05$). Кроме того, у пациентов с двусторонним поражением легких чаще наблюдается тяжелое течение заболевания ($p < 0,05$).

На основании установленных данных была разработана шкала оценки вероятности тяжёлого течения вирусной пневмонии, которая с $or = 133,1$ (95% CI 32,7-547,6); AUC 0,955 (95% CI 0,900-0,985); Se – 92,11; Sp – 91,25; $p < 0,0001$ позволяет спрогнозировать тяжелое течение заболевания с необходимостью интенсивной терапии и продолжительной кислородной поддержки в виде инсуффляции кислорода через лицевую маску или ИВЛ в течение первых 6 суток от поступления в больницу. Это позволит перераспределять пото-

ки пациентов между организациями здравоохранения, оценить необходимость свободных мест в «кислородных палатах» и/или отделении интенсивной терапии.

Литература

1. COVID-19 diagnosis and management: a comprehensive review / G. Pascarella [et al.] // J. Intern. Med. – 2020 Apr. – P. 1–15.
2. Risk factors for severity and mortality in adult COVID-19 inpatients in Wuhan / X. Li [et al.] // J. Allergy Clin. Immunol. – 2020 Apr.
3. The trinity of COVID-19: immunity, inflammation and intervention / M. Z. Tay [et al.] // Nat. Rev. Immunol. – 2020 Jun. – Vol. 20, N 6. – P. 363–374.
4. Epidemiological analysis of COVID-19 and practical experience from China / Q. Ye [et al.] // J. Med. Virol. – 2020 Apr.
5. COVID-19-associated cardiovascular morbidity in older adults: a position paper from the Italian Society of Cardiovascular Researches / F. Moccia [et al.] // GeroScience. – 2020 May. – P. 1–29.
6. Fink, S. L. Apoptosis, Pyroptosis, and Necrosis: Mechanistic Description of Dead and Dying Eukaryotic Cells / S. L. Fink, B. T. Cookson // Infect. Immun. – 2005 Apr. – Vol. 73, N 4. – P. 1907–1916.
7. Dysregulation of Immune Response in Patients With Coronavirus 2019 (COVID-19) in Wuhan, China / C. Qin [et al.] // Clin. Infect. Dis. – 2020 Mar.
8. Clinical Characteristics of Coronavirus Disease 2019 in China / W. Guan [et al.] // N. Eng. J. Med. – 2020. – Vol. 382. – P. 1708–1720.
9. Acute renal impairment in coronavirus-associated severe acute respiratory syndrome / K. H. Chu [et al.] // Kidney Int. – 2005 Feb. – Vol. 67, N 2. – P. 698–705.

Поступила 13.05.2020 г.

Принята в печать 01.06.2020 г.

References

1. Pascarella G, Strumia A, Piliago C, Bruno F, Del Buono R, Costa F, et al. COVID-19 diagnosis and management: a comprehensive review. J Intern Med. 2020 Apr;1-15. doi: 10.1111/joim.13091.
2. Li X, Xu S, Yu M, Wang K, Tao Y, Zhou Y, et al. Risk factors for severity and mortality in adult COVID-19 inpatients in Wuhan. J Allergy Clin Immunol. 2020 Apr. doi: 10.1016/j.jaci.2020.04.006
3. Tay MZ, Poh CM, Rénia L, MacAry PA, Ng LFP. The trinity of COVID-19: immunity, inflammation and intervention. Nat Rev Immunol. 2020 Jun;20(6):363-74. doi: 10.1038/s41577-020-0311-8
4. Ye Q, Wang B, Mao J, Fu J, Shang S, Shu Q, et al. Epidemiological analysis of COVID-19 and practical experience from China. J Med Virol. 2020 Apr. doi: 10.1002/jmv.25813
5. Moccia F, Gerbino A, Lionetti V, Miragoli M, Munaron LM, Pagliaro P, et al. COVID-19-associated cardiovascular

morbidity in older adults: a position paper from the Italian Society of Cardiovascular Researches. Geroscience. 2020 May;1-29. doi: 10.1007/s11357-020-00198-w.

6. Fink SL, Cookson BT. Apoptosis, Pyroptosis, and Necrosis: Mechanistic Description of Dead and Dying Eukaryotic Cells. Infect Immun. 2005 Apr;73(4):1907-16. doi: 10.1128/IAI.73.4.1907-1916.2005
7. Qin C, Zhou L, Hu Z, Zhang S, Yang S, Tao Y, et al. Dysregulation of Immune Response in Patients With Coronavirus 2019 (COVID-19) in Wuhan, China. Clin Infect Dis. 2020 Mar. doi: 10.1093/cid/ciaa248
8. Guan W, Ni Z, Hu Y, Liang W, Ou C, He J, et al. Clinical Characteristics of Coronavirus Disease 2019 in China. N Eng J Med. 2020 Apr 30;382:1708-20. doi: 10.1056/NEJMoa2002032
9. Chu KH, Tsang WK, Tang CS, Lam MF, Lai FM, To KF, et al. Acute renal impairment in coronavirus-associated severe acute respiratory syndrome. Kidney Int. 2005 Feb;67(2):698-705. doi: 10.1111/j.1523-1755.2005.67130.x

Submitted 13.05.2020

Accepted 01.06.2020

Сведения об авторах:

Прищепенко В.А. – ассистент кафедры пропедевтики внутренних болезней, Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет,

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1097-918X>;

Юпатов Геннадий Иванович – д.м.н., профессор, заведующий кафедрой пропедевтики внутренних болезней, Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет;

Окулич В.К. – к.м.н., доцент кафедры клинической микробиологии, Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет,

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8226-6405>.

Information about authors:

Pryshchepenka V.A. – lecturer of the Chair of Internal Diseases Propedeutics, Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University,

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1097-918X>;

Yupatau H.I. – Doctor of Medical Sciences, professor, head of the Chair of Internal Diseases Propedeutics, Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University;

Okulich V.K. – Candidate of Medical Sciences, associate professor of the Chair of Clinical Microbiology, Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University,

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8226-6405>.

Адрес для корреспонденции: Республика Беларусь, 210009, г. Витебск, пр. Фрунзе, 27, Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет, кафедра пропедевтики внутренних болезней. E-mail: prslava92@gmail.com – Прищепенко Вячеслав Александрович.

Correspondence address: Republic of Belarus, 210009, Vitebsk, 27 Frunze ave., Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University, Chair of Internal Diseases Propedeutics. E-mail: prslava92@gmail.com – Viachaslau A. Pryshchepenka.

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ РЕЗУЛЬТАТОВ ЛЕЧЕНИЯ ПАЦИЕНТОВ, СТРАДАЮЩИХ РАКОМ ПРЕДСТАТЕЛЬНОЙ ЖЕЛЕЗЫ ПРОМЕЖУТОЧНОЙ ГРУППЫ РИСКА

ГОЛДЫЦКИЙ С.О.¹, КРАСНЫЙ С.А.², ДЕМЕШКО П.Д.², ЛУД Н.Г.¹

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

²Республиканский научно-практический центр онкологии и медицинской радиологии им. Н.Н. Александрова, г. Минск, Республика Беларусь

Вестник ВГМУ. – 2020. – Том 19, №3. – С. 79-86.

COMPARATIVE ANALYSIS OF TREATMENT OUTCOMES IN PATIENTS WITH INTERMEDIATE-RISK PROSTATE CANCER

GOLDYTSKI S.O.¹, KRASNY S.A.², DEMESHKO P.D.², LUD N.G.¹

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

²N.N. Alexandrov National Cancer Centre of Belarus, Minsk, Republic of Belarus

Vestnik VGMU. 2020;19(3):79-86.

Резюме.

Цель – провести ретроспективное сравнение отдаленных онкологических результатов у пациентов группы промежуточного риска после радикальной простатэктомии, сочетанной лучевой терапии и брахитерапии высокой мощностью дозы в монорежиме.

Материал и методы. С 2008 по 2011 г. в РНПЦ онкологии и медицинской радиологии им. Н.Н. Александрова было радикально пролечено 120 пациентов, страдающих раком предстательной железы группы промежуточного риска прогрессирования, за 114 из которых было продолжено наблюдение. Пациенты были разделены на 3 группы в зависимости от вида лечения. Стратификация в группу промежуточного риска выполнялась в соответствии с критериями NCCN. Период наблюдения составил 8 лет. Брахитерапия высокой мощностью дозы и сочетанная лучевая терапия выполнялись на специализированном оборудовании, радикальная простатэктомия выполнялась по стандартной методике открытым доступом. В качестве конечных результатов оценивались бессобытийная, раковоспецифическая и общая выживаемость пациентов.

Результаты. В результате ретроспективного анализа 8-летняя бессобытийная выживаемость, раковоспецифическая выживаемость были сопоставимыми для все видов лечения. Показатель общей 8-летней выживаемости составил 90,5%.

Заключение. Исследуемые методы лечения характеризуются хорошими отдаленными онкологическими результатами у пациентов, страдающих раком предстательной железы промежуточной группы риска. С учетом хорошей переносимости и безопасности брахитерапии высокой мощностью и сочетанной лучевой терапии, а также полученных онкологических результатов, данные методы могут быть рекомендованы в качестве радикального лечения и альтернативы радикальной простатэктомии у пациентов, страдающих раком предстательной железы группы промежуточного риска прогрессирования.

Ключевые слова: рак предстательной железы, брахитерапия высокой мощностью дозы, сочетанная лучевая терапия, радикальная простатэктомия, лучевая терапия, промежуточный риск прогрессирования.

Abstract.

Objectives. To conduct a retrospective comparison of long-term oncological outcomes in patients with intermediate-risk prostate cancer after radical prostatectomy, combined radiotherapy and high-dose rate brachytherapy in mono mode.

Material and methods. From 2008 to 2011 in the N. N. Alexandrov National Cancer Centre of Belarus 120 intermediate-

risk prostate cancer patients were radically treated, of which 114 were further followed up after treatment. Patients were divided into 3 groups depending on the type of treatment. Stratification to the intermediate-risk group was performed in accordance with the NCCN criteria. The follow-up period lasted for 8 years. High-dose rate brachytherapy and combined radiotherapy were provided using specialized equipment, radical prostatectomy was performed according to the standard open-access technique. As net results, the event-free survival, cancer specific survival, and overall patients' survival were evaluated.

Results. As a result of the retrospective analysis, the eight-year event-free survival, cancer specific survival turned out to be comparable for all types of treatment. The eight-year overall survival rate made up 90.5%.

Conclusions. The studied treatment methods are characterized by good long-term oncological outcomes in patients with intermediate-risk prostate cancer. Taking into account good tolerance and safety of high-dose rate brachytherapy and combined radiotherapy, as well as the oncological results obtained, these methods can be recommended as radical treatment and an alternative to radical prostatectomy in patients suffering from prostate cancer of the intermediate-risk progression group.

Key words: prostate cancer; high-dose rate brachytherapy, combined radiation therapy, radical prostatectomy, radiation therapy, intermediate risk of progression.

Рак предстательной железы (РПЖ), являясь одним из наиболее распространенных онкологических заболеваний в мире среди мужского населения [1], характеризуется различным прогнозом и, соответственно, различными подходами к лечению. На сегодняшний день, помимо TNM-классификации 2017 года Международного Противоракового Союза (UICC) [2], стратификация пациентов на группы риска прогрессирования является наиболее значимым прогностическим фактором в выборе лечебной тактики и наблюдения у пациентов, страдающих РПЖ [3]. Данная стратификация основана на риске биохимического и клинического прогрессирования после выполненного радикального лечения исходя из характеристик опухолевого процесса. Согласно критериям D'Amico и рекомендациям NCCN выделяют группы низкого, промежуточного и высокого рисков, в свою очередь группы низкого и высокого рисков подразделяются на крайне низкого и крайне высокого. При определении группы используются данные гистологического исследования, в частности сумма Глиссона, процент и объем поражения в биоптате, а также уровень и соотношение форм простатспецифического антигена (ПСА) на момент диагностики, результат пальцевого ректального исследования предстательной железы. Точность стратификации может быть повышена с помощью биопсии после выполнения мультипараметрической МРТ, использования генетических маркеров, особенно у пациентов с наследственным характером заболевания. В качестве дополнительного параметра оцениваются лимфоузлы, если риск их поражения превышает 10% по существующим номо-

граммам [4], а также выполняется скintiграфия костей. В данной работе более подробно рассматривается группа промежуточного риска. Согласно вышеописанным критериям к ней относятся пациенты, страдающие РПЖ с суммой Глиссона 7, уровнем ПСА 10-20 нг/мл, отсутствием признаков распространенного заболевания (T2b-c).

Во многих случаях РПЖ можно отнести к медленно прогрессирующим заболеваниям, следовательно, тактика активного наблюдения может быть оправдана для определенных групп пациентов [5]. Однако существует ряд исследований, которые доказывают лучшую эффективность незамедлительного лечения по сравнению с отсроченным в группе пациентов с РПЖ промежуточного риска. Так, согласно работе Bekelman et al., радикальное лечение, выполненное после верификации диагноза, характеризовалось лучшими отдаленными онкологическими результатами, в частности низким риском развития отдаленных метастазов, по сравнению с активным наблюдением [6]. Таким образом, пациенты промежуточной группы риска нуждаются в активном лечении, которое должно сочетать в себе хорошую онкологическую эффективность с сохранением высокого уровня качества жизни.

Радикальное лечение у пациентов группы промежуточного риска включает в себя хирургический метод и лучевую терапию. К хирургическому методу относится радикальная простатэктомия (РПЭ), выполняемая открытым либо малоинвазивным доступом в сочетании или без лимфодиссекции. Лучевая терапия включает в себя дистанционную лучевую терапию, а также брахитерапию высокой мощностью дозы в сочетании с дистан-

ционной лучевой терапией. В настоящее время накоплено большое количество данных, касающихся онкологических и функциональных результатов лечения. Так, согласно результатам исследований SPCG4 и PIVOT, сравнивающих радикальную простатэктомию и выжидательную тактику, риски развития метастатической болезни были значительно ниже, а общая выживаемость была больше для группы хирургического лечения [7, 8]. Еще одно исследование, посвященное РПЭ у пациентов группы промежуточного риска, включавшее 2795 случаев, показало, что биохимический рецидив отсутствовал у 65% пациентов спустя 10 лет наблюдения, а отсутствие клинического прогрессирования было отмечено у 89% пациентов [9]. Современная дистанционная лучевая терапия (ДЛТ) выполняется с модуляцией интенсивности (IMRT) в суммарной дозе 76-80 Гр в режиме стандартного фракционирования с коротким курсом андрогенной блокады (4-6 мес.). Увеличение суммарной очаговой дозы до 80 Гр сопряжено с лучшими онкологическими результатами [10]. Однако эскалация дозы может привести к более выраженной радиационной токсичности [11]. Одним из наиболее крупных исследований, посвященных ДЛТ у пациентов промежуточного риска, является работа Michalski et al. [12], согласно результатам которой, безрецидивная выживаемость составила 80% при суммарной дозе 79,2 Гр с периодом наблюдения 8 лет, при более выраженной постлучевой токсичности.

Согласно рекомендациям GEC/ESTRO брахитерапия высокой мощностью дозы (БтВМД) в сочетании с ДЛТ (сочетанная лучевая терапия – СЛТ) может применяться у пациентов групп промежуточного и высокого рисков, для группы промежуточного риска с благоприятным прогнозом может быть использована БтВМД в моно режиме (БтВМДм) [13]. Более того, данный подход обладает рядом преимуществ по сравнению со стандартной ДЛТ в режиме классического фракционирования. Это обусловлено тем, что при выполнении СЛТ возможно создание более высокой биоэквивалентной внутритканевой дозы облучения за счет применения БтВМД с дополнительным воздействием ДЛТ на экстрапростатическую ткань. Подобный принцип воздействия учитывает особенности радиобиологии ткани предстательной железы, согласно которым соотношение α/β (1,5) для аденокарциномы простаты меньше, чем для окружающих тканевых структур [14]. Таким образом, увеличение дозы за фракцию приводит к

увеличению биоэквивалентной дозы для опухоли по сравнению с окружающими тканями, что благоприятно сказывается на эффективности и безопасности метода [15].

На основании анализа современных данных наиболее частым вариантом БтВМД для пациентов промежуточной группы риска является СЛТ. Радиобиологические особенности опухолевого процесса позволяют достичь лучшего локального контроля при сохранении высокого уровня качества жизни в сравнении с другими методами радикального лечения. В проспективном рандомизированном исследовании Hoskin et al. провели сравнение отдаленных онкологических результатов (отсутствие биохимического рецидива), а также оценили выраженность постлучевой токсичности у пациентов промежуточной и высокой групп рисков после проведения СЛТ и ДЛТ [16]. В результате для пациентов группы СЛТ были характерны лучшие результаты безрецидивной выживаемости по сравнению с ДЛТ. При 5-, 7-, и 10-летнем периоде наблюдения данный показатель для группы СЛТ составил 75%, 66%, 46%, для группы ДЛТ – 61%, 48% и 39% соответственно. В проведенном Zaorsky N. et al. систематическом обзоре проспективных исследований, целью которого являлся анализ отдаленных онкологических результатов СЛТ, раковоспецифическая выживаемость составила 99-100%, общая выживаемость – 85-100% [17]. Следует отметить, что большинство работ, доказывающих высокую эффективность и хорошую переносимость СЛТ, выполнены в сравнении с ДЛТ. Количество исследований, посвященных сравнению СЛТ с радикальной простатэктомией (РПЭ) в группе промежуточного риска, крайне ограничено. Так, Weed D. et al., выполнив сравнение СЛТ и РПЭ в группе промежуточного и высокого рисков, пришли к выводу, что СЛТ сопряжена с лучшей 5- и 7-летней безрецидивной выживаемостью, которая составила 77% и 70% для группы СЛТ, и 56% и 45% для группы РПЭ [18].

Цель исследования – провести ретроспективное сравнение отдаленных онкологических результатов у пациентов группы промежуточного риска после радикальной простатэктомии, сочетанной лучевой терапии и брахитерапии высокой мощностью дозы в монорежиме.

Материал и методы

В период с 2008 по 2011 гг. в РНПЦ онко-

логии и медицинской радиологии им. Н.Н. Александра было радикально пролечено 120 пациентов, страдающих РПЖ группы промежуточного риска прогрессирования, за 114 из которых было продолжено наблюдение. Пациенты были разделены на 3 группы в зависимости от вида лечения. В группу РПЭ входило 59 человек, группу СЛТ – 39 человек, группу БтВМДм – 16. Средний возраст пациентов составил 62, 69 и 66 лет соответственно. Стратификация в группу промежуточного риска выполнялась в соответствии с критериями NCCN (Т2b-с, ПСА 10-20 нг/мл, сумма Глиссона 7, гистологический тип 2-3). Разделения на подгруппы благоприятного и неблагоприятного риска не проводилось. Всем пациентам перед проведением лучевой терапии проводился короткий курс андрогенной блокады продолжительностью 4-6 мес. Период наблюдения составил 8 лет. БтВМДм выполнялась с помощью аппаратов Microselectron HDR V3 и Flexitron с применением систем планирования SWIFT и Oncentra Prostate (Nucletron), с разовой очаговой дозой 11,5 Гр. При проведении СЛТ дистанционное облучение выполнялось на установках Trilogy iX и Unique (Varian) с разовой очаговой дозой 2 Гр и суммарной очаговой дозой 44-46 Гр. РПЭ выполнялась открытым позадилонным доступом по стандартной методике. Конечным результатом в исследовании являлась бессобытийная выживаемость. В качестве события принимался биохимический рецидив либо клиническое прогрессирование.

Биохимический рецидив после лучевой терапии соответствовал критериям Phoenix (рост уровня ПСА на 2 нг/мл над уровнем надира), после РПЭ – свыше 0,2 нг/мл в трех последовательных измерениях [19]. В качестве клинического прогрессирования определялась раковоспецифическая выживаемость, а также вновь выявленные метастазы. Дополнительно оценивалась общая выживаемость. Данные анализировались при помощи пакета программ IBM SPSS Statistics 23, функция выживаемости оценивалась с помощью процедуры Каплана-Майера.

Результаты и обсуждение

В результате ретроспективного анализа 8-летняя бессобытийная выживаемость в группе РПЭ составила 88,1% (рис. 1), СЛТ – 87,2% (рис. 2), БтВМДм – 87,5% (рис. 3). В ходе наблюдения у 7 пациентов в группе РПЭ было зарегистрировано «событие»: у 5-х – биохимический рецидив, у 2-х были диагностированы метастазы. В группе СЛТ биохимический рецидив был отмечен у 4-х пациентов, метастазы в кости – у 2-х. В группе БтВМДм у двух пациентов был отмечен биохимический рецидив, у одного из которых диагностированы метастазы в лимфоузлах и костях скелета. Остальные пациенты не нуждались в каком-либо дополнительном лечении. При сравнении бессобытийной выживаемости не было получено достоверных различий между исследу-

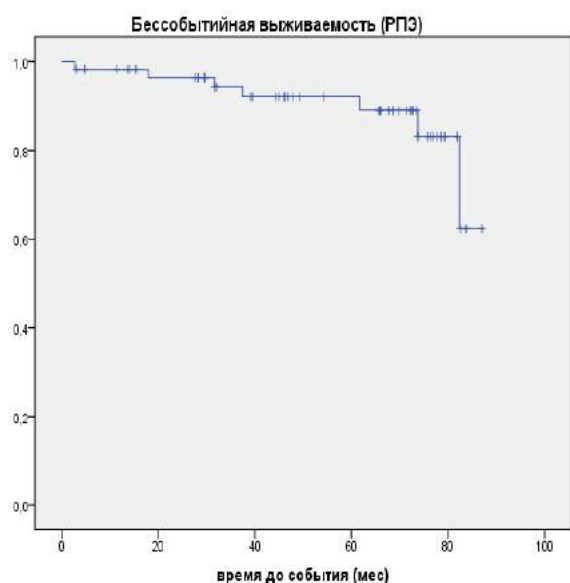


Рисунок 1 – 8-летняя бессобытийная выживаемость пациентов после радикальной простатэктомии.

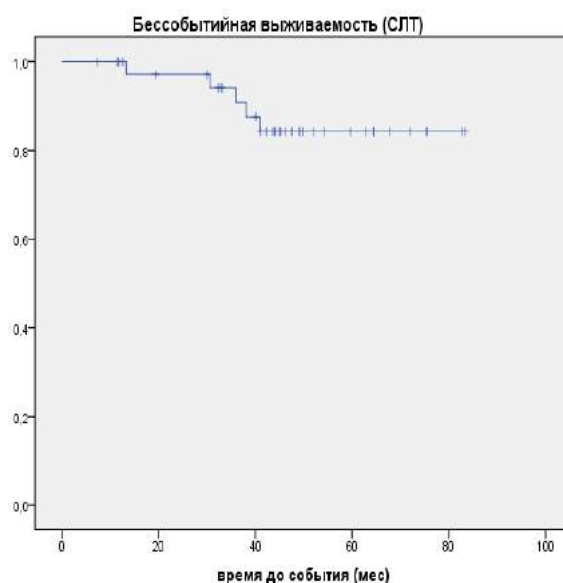


Рисунок 2 – 8-летняя бессобытийная выживаемость пациентов после сочетанной лучевой терапии.

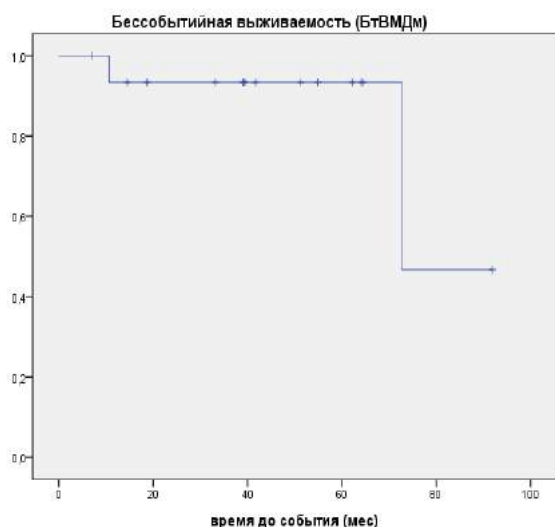


Рисунок 3 – 8-летняя бессобытийная выживаемость пациентов после брахитерапии высокой мощностью дозы в монорежиме.

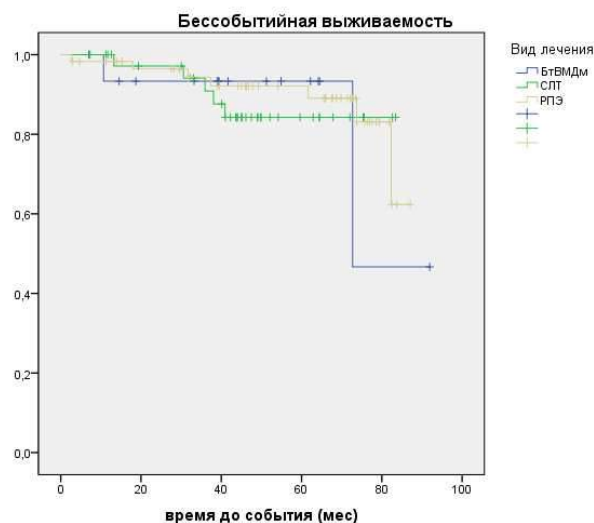


Рисунок 4 – Сравнение 8-летней бессобытийной выживаемости после радикальной простатэктомии, сочетанной лучевой терапии, брахитерапии высокой мощностью дозы в монорежиме.

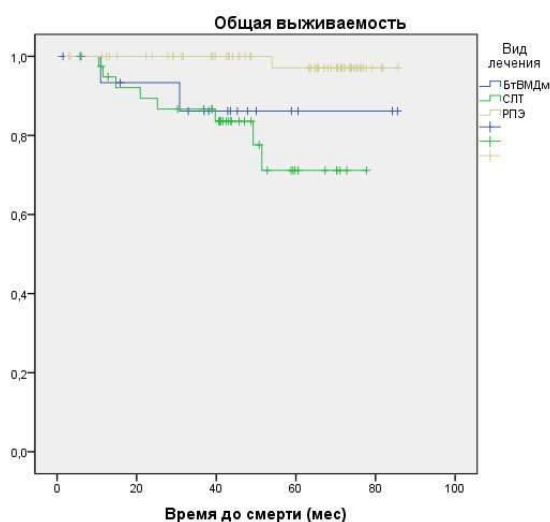


Рисунок 5 – Общая 8-летняя выживаемость пациентов после радикальной простатэктомии, сочетанной лучевой терапии, брахитерапии высокой мощностью дозы в монорежиме.

емыми группами (рис. 4). Это свидетельствует о сопоставимой эффективности применяемых методов лечения.

Дополнительно оценивалась раковоспецифическая выживаемость. Умерших от РПЖ за время наблюдения не было. В итоге показатель раковоспецифической выживаемости составил 100%.

В течение 8 лет наблюдения от причин, не связанных с основным заболеванием, умер-

ло 11 человек. Показатель общей выживаемости имел различия между исследуемыми группами. Наибольшее значение было получено для группы РПЭ – 98,3%, наименьшее для группы СЛТ – 80,0%, для группы БтВМДм – 88,2% (рис. 5). Данные различия можно объяснить разницей среднего возраста пациентов, входивших в группы РПЭ и СЛТ. В итоге показатель общей 8-летней выживаемости составил 90,5%.

Таким образом, отдаленные результаты после РПЭ, СЛТ и БтВМДм являются сопоставимыми и характеризуются хорошими отдаленными онкологическими результатами. Высокая эффективность внутритканевой и сочетанной лучевой терапии в локальном контроле опухолевого процесса также была получена в сравнении с дистанционной лучевой терапией [20, 21]. Результаты нашего сравнительного анализа показывают перспективность использования внутритканевой лучевой терапии в лечении локализованного рака предстательной железы в качестве альтернативы РПЭ.

Заключение

1. Радикальная простатэктомия, сочетанная лучевая терапия и брахитерапия высокой мощностью дозы в монорежиме характеризуются хорошими отдаленными онкологическими результатами у пациентов, страдающих РПЖ промежуточной группы риска.

2. Показатели 8-летней бессобытийной и раковоспецифической выживаемости одинаково высоки для каждого метода лечения и составляют в среднем 87% и 100% соответственно.

3. Брахиотерапия высокой мощностью дозы в монорежиме и сочетанная лучевая терапия, с учетом хорошей переносимости и безопасности, а также сопоставимых с радикальной простатэктомией онкологических результатов, могут быть рекомендованы в качестве радикального лечения и альтернативы РПЭ у пациентов, страдающих РПЖ группы промежуточного риска прогрессирования.

Литература

1. Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012 / J. Ferlay [et al.] // *Int. J. Cancer.* – 2015 Mar. – Vol. 136, N 5. – P. E359-E386.
2. Brierley, J. D. TNM classification of malignant tumors / J. D. Brierley, M. K. Gospodarowicz, C. Wittekind. – 8th ed. – [USA] : Wiley-Blackwell, 2017. – 272 p.
3. The University of California, San Francisco Cancer of the Prostate Risk Assessment score: a straightforward and reliable preoperative predictor of disease recurrence after radical prostatectomy / M. R. Cooperberg [et al.] // *J. Urol.* – 2005 Jun. – Vol. 173, N 6. – P. 1938–1942.
4. Comparison between Briganti, Partin and MSKCC tools in predicting positive lymph nodes in prostate cancer: a systematic review and meta-analysis / S. Cimino [et al.] // *Scand. J. Urol.* – 2017 Oct. – Vol. 51, N 5. – P. 345–350.
5. EAU-EANM-ESTRO-ESUR-SIOG Prostate Cancer Guideline Panel Consensus Statements for Deferred Treatment with Curative Intent for Localized Prostate Cancer from an International Collaborative Study (DETECTIVE Study) / T. B. L. Lam [et al.] // *Eur. Urol.* – 2019 Dec. – Vol. 76, N 6. – P. 790–813.
6. Clinically Localized Prostate Cancer: ASCO Clinical Practice Guideline Endorsement of an American Urological Association/ American Society for Radiation Oncology/ Society of Urologic Oncology Guideline / J. E. Bekelman [et al.] // *J. Clin. Oncol.* – 2018 Nov. – Vol. 36, N 32. – P. 3251–3258.
7. 10-Year outcomes after monitoring, surgery, or radiotherapy for localized prostate cancer / F. C. Hamdy [et al.] // *N. Engl. J. Med.* – 2016 Oct. – Vol. 375, N 15. – P. 1415–1424.
8. Radical prostatectomy versus watchful waiting in early prostate cancer / A. Bill-Axelsson [et al.] // *N. Engl. J. Med.* – 2011 May. – Vol. 364, N 18. – P. 1708–1717.
9. Clinic validation of the D'Amico risk group classification for predicting survival following radical prostatectomy / S. A. Boorjian [et al.] // *J. Urol.* – 2008 Apr. – Vol. 179, N 4. – P. 1354–1360.
10. Effect of increasing radiation doses on local and distant failures in patients with localized prostate cancer / P. A. Kupelian [et al.] // *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* – 2008 May. – Vol. 71, N 1. – P. 16–22.
11. Long-term results of the Dutch randomized prostate cancer trial: impact of dose-escalation on local, biochemical, clinical failure, and survival / W. D. Heemsbergen [et al.] // *Radiother. Oncol.* – 2014 Jan. – Vol. 110, N 1. – P. 104–109.
12. Effect of Standard vs Dose-Escalated Radiation Therapy for Patients with Intermediate-Risk Prostate Cancer: The NRG Oncology RTOG 0126 Randomized Clinical Trial / J. M. Michalski [et al.] // *JAMA Oncol.* – 2018 Jun. – Vol. 4, N 6. – e180039.
13. GEC/ESTRO recommendations on high dose rate afterloading brachytherapy for localized prostate cancer: an update / P. J. Hoskin [et al.] // *Radiother. Oncol.* – 2013 Jun. – Vol. 107, N 3. – P. 325–332.
14. Dose-fractionation sensitivity of prostate cancer deduced from radiotherapy outcomes of 5,969 patients in seven international institutional datasets: alpha/beta = 1.4 (0.9-2.2) Gy / R. Miralbell [et al.] // *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* – 2012 Jan. – Vol. 82, N 1. – P. e17–e24.
15. Direct evidence that prostate tumors show high sensitivity to fractionation (low alpha/beta ratio), similar to late-responding normal tissue / D. J. Brenner [et al.] // *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* – 2002 Jan. – Vol. 52, N 1. – P. 6–13.
16. Randomized trial of external beam radiotherapy alone or combined with high-dose-rate brachytherapy boost for localized prostate cancer / P. J. Hoskin [et al.] // *Radiother. Oncol.* – 2012 May. – Vol. 103, N 2. – P. 217–222.
17. High dose rate brachytherapy boost for prostate cancer: a systematic review / N. G. Zaorsky [et al.] // *Cancer Treat. Rev.* – 2014 Apr. – Vol. 40, N 3. – P. 414–425.
18. A comparison of external beam radiation combined with HDR IR-192 boost brachytherapy vs radical prostatectomy for patients with intermediate to high risk prostate cancer / D. Weed [et al.] // *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* – 2002 Oct. – Vol. 54, N 2. – P. 187.
19. Defining biochemical failure following radiotherapy with or without hormonal therapy in men with clinically localized prostate cancer: Recommendations of the RTOG-ASTRO Phoenix Consensus Conference / M. Roach [et al.] // *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* – 2006 Jul. – Vol. 65, N 4. – P. 965–974.
20. High-dose-rate monotherapy: safe and effective brachytherapy for patients with localized prostate cancer / D. J. Demanes [et al.] // *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* – 2011 Dec. – Vol. 81, N 5. – P. 1286–1292.
21. Yoshioka, Y. Current status and perspectives of brachytherapy for prostate cancer / Y. Yoshioka // *Int. J. Clin. Oncol.* – 2009 Feb. – Vol. 14, N 1. – P. 31–36.

Поступила 22.04.2020 г.
Принята в печать 01.06.2020 г.

References

1. Ferlay J, Soerjomataram I, Dikshit R, Eser S, Mathers C, Rebelo M, et al. Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012. *Int J Cancer*. 2015 Mar;136(5):E359-86. doi: 10.1002/ijc.29210
2. Brierley JD, Gospodarowicz MK, Wittekind C. *TNM classification of malignant tumors*. 8th ed. [USA]: Wiley-Blackwell; 2017. 272 p.
3. Cooperberg MR, Pasta DJ, Elkin EP, Litwin MS, Latini DM, Chane JD, et al. The University of California, San Francisco Cancer of the Prostate Risk Assessment score: a straightforward and reliable preoperative predictor of disease recurrence after radical prostatectomy. *J Urol*. 2005 Jun;173(6):1938-42. doi: 10.1097/01.ju.0000158155.33890.e7
4. Cimino S, Reale G, Castelli T, Favilla V, Giardina R, Russo GI, et al. Comparison between Briganti, Partin and MSKCC tools in predicting positive lymph nodes in prostate cancer: a systematic review and meta-analysis. *Scand J Urol*. 2017 Oct;51(5):345-350. doi: 10.1080/21681805.2017.1332680
5. Lam TBL, MacLennan S, Willemse P-PM, Mason MD, Plass K, Shepherd R, et al. EAU-EANM-ESTRO-ESUR-SIOG Prostate Cancer Guideline Panel Consensus Statements for Deferred Treatment with Curative Intent for Localized Prostate Cancer from an International Collaborative Study (DETECTIVE Study). *Eur Urol*. 2019 Dec;76(6):790-813. doi: 10.1016/j.eururo.2019.09.020
6. Bekelman JE, Rumble RB, Chen RC, Pisansky TM, Finelli A, Feifer A, et al. Clinically Localized Prostate Cancer: ASCO Clinical Practice Guideline Endorsement of an American Urological Association/ American Society for Radiation Oncology/ Society of Urologic Oncology Guideline. *J Clin Oncol*. 2018 Nov 10;36(32):3251-3258. doi: 10.1200/JCO.18.00606
7. 10-Year outcomes after monitoring, surgery, or radiotherapy for localized prostate cancer / F. C. Hamdy [et al.] / *N. Engl. J. Med.* – 2016 Oct. – Vol. 375, N 15. – P. 1415–1424.
8. Bill-Axelson A, Holmberg L, Ruutu M, Garmo H, Stark JR, Busch C, et al. Radical prostatectomy versus watchful waiting in early prostate cancer. *N Engl J Med*. 2011 May;364(18):1708-17. doi: 10.1056/NEJMoa1011967
9. Boorjian SA, Karnes RJ, Rangel LJ, Bergstralh EJ, Blute ML. Clinic validation of the D'amico risk group classification for predicting survival following radical prostatectomy. *J Urol*. 2008 Apr;179(4):1354-60; discussion 1360-1. doi: 10.1016/j.juro.2007.11.061
10. Kupelian PA, Ciezki J, Reddy CA, Klein EA, Mahadevan A. Effect of increasing radiation doses on local and distant failures in patients with localized prostate cancer. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 2008 May;71(1):16-22. doi: 10.1016/j.ijrobp.2007.09.020
11. Heemsbergen WD, Al-Mamgani A, Slot A, Dielwart MFH, Lebesque JV. Long-term results of the Dutch randomized prostate cancer trial: impact of dose-escalation on local, biochemical, clinical failure, and survival. *Radiother Oncol*. 2014 Jan;110(1):104-9. doi: 10.1016/j.radonc.2013.09.026
12. Michalski JM, Moughan J, Purdy J, Bosch W, Bruner DW, Bahary J-P, et al. Effect of Standard vs Dose-Escalated Radiation Therapy for Patients with Intermediate-Risk Prostate Cancer: The NRG Oncology RTOG 0126 Randomized Clinical Trial. *JAMA Oncol*. 2018 Jun;4(6):e180039. doi: 10.1001/jamaoncol.2018.0039
13. Hoskin PJ, Colombo A, Henry A, Niehoff P, Hellebust TP, Siebert F-A, et al. GEC/ESTRO recommendations on high dose rate afterloading brachytherapy for localized prostate cancer: an update. *Radiother Oncol*. 2013 Jun;107(3):325-32. doi: 10.1016/j.radonc.2013.05.002
14. Miralbell R, Roberts SA, Zubizarreta E, Hendry JH. Dose-fractionation sensitivity of prostate cancer deduced from radiotherapy outcomes of 5,969 patients in seven international institutional datasets: alpha/beta = 1.4 (0.9-2.2) Gy. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 2012 Jan;82(1):e17-24. doi: 10.1016/j.ijrobp.2010.10.075
15. Brenner DJ, Martinez AA, Edmundson GK, Mitchell C, Thames HD, Armour EP. Direct evidence that prostate tumors show high sensitivity to fractionation (low alpha/beta ratio), similar to late-responding normal tissue. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 2002 Jan;52(1):6-13. doi: 10.1016/s0360-3016(01)02664-5
16. Hoskin PJ, Rojas AM, Bownes PJ, Lowe GJ, Ostler PJ, Bryant L. Randomized trial of external beam radiotherapy alone or combined with high-dose-rate brachytherapy boost for localized prostate cancer. *Radiother Oncol*. 2012 May;103(2):217-22. doi: 10.1016/j.radonc.2012.01.007
17. Zaorsky NG, Doyle L, Yamoah K, Andrel JA, Trabulsi EJ, Hurwitz MD, et al. High dose rate brachytherapy boost for prostate cancer: a systematic review. *Cancer Treat Rev*. 2014 Apr;40(3):414-25. doi: 10.1016/j.ctrv.2013.10.006
18. Weed D, Kestin L, Martinez A, Gustafson G, Vicini F. A comparison of external beam radiation combined with HDR IR-192 boost brachytherapy vs radical prostatectomy for patients with intermediate to high risk prostate cancer. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 2002 Oct;54(2):187. doi: 10.1016/S0360-3016(02)03380-1
19. Roach M, Hanks G, Thames JrH, Schellhammer P, Shipley WU, Sokol GH, et al. Defining biochemical failure following radiotherapy with or without hormonal therapy in men with clinically localized prostate cancer: Recommendations of the RTOG-ASTRO Phoenix Consensus Conference. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 2006 Jul;65(4):965-74. doi: 10.1016/j.ijrobp.2006.04.029
20. Demanes DJ, Martinez AA, Ghilezan M, Hill DR, Schour L, Brandt D, et al. High-dose-rate monotherapy: safe and effective brachytherapy for patients with localized prostate cancer. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 2011 Dec;81(5):1286-92. doi: 10.1016/j.ijrobp.2010.10.015
21. Yoshioka Y. Current status and perspectives of brachytherapy for prostate cancer. *Int J Clin Oncol*. 2009 Feb;14(1):31-6. doi: 10.1007/s10147-008-0866-z

Submitted 22.04.2020

Accepted 01.06.2020

Сведения об авторах:

Голдыцкий С.О. – старший преподаватель кафедры госпитальной хирургии с курсами урологии и детской хирургии, Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет,

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3066-3185>;

Красный С.А. – д.м.н., профессор, член-корреспондент НАН Беларуси, заместитель директора по научной работе РНПЦ онкологии и медицинской радиологии им. Н.Н. Александрова,

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3244-5664>;

Демешко П.Д. – д.м.н., заведующий отделом лучевой и комплексной терапии, председатель совета молодых ученых РНПЦ онкологии и медицинской радиологии им. Н.Н. Александрова,

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1324-3656>;

Луд Н.Г. – д.м.н., профессор, заведующий кафедрой онкологии с курсами лучевой диагностики и лучевой терапии, ФПК и ПК, Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет,

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1975-3163>.

Information about authors:

Goldytiski S.O. – senior lecturer 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/0000-0002-3066-3185>;

Krasny S.A. – Doctor of Medical Sciences, professor, corresponding member of the National Academy of Sciences of Belarus, deputy director for scientific work of the N.N. Alexandrov National Cancer Centre of Belarus,

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3244-5664>;

Demeshko P.D. – Doctor of Medical Sciences, head of the Department of Radiation and Complex Therapy, chairman of the Council of Young Scientists of the N.N. Alexandrov National Cancer Centre of Belarus,

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1324-3656>;

Lud N.G. – Doctor of Medical Sciences, professor, head of the Chair of Oncology with the courses of Radiodiagnosis & Radiotherapy and the course of the Faculty for Advanced Training & Retraining, Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University,

<https://orcid.org/0000-0002-1975-3163>.

Адрес для корреспонденции: Республика Беларусь, 210009, г. Витебск, пр. Фрунзе, 27, Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет, кафедра онкологии с курсами лучевой диагностики и лучевой терапии, ФПК и ПК. E-mail: gsomd2011@gmail.com – Голдыцкий Сергей Олегович.

Correspondence address: Republic of Belarus, 210009, Vitebsk, 27 Frunze ave., Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University, Chair of Oncology with the courses of Radiodiagnosis & Radiotherapy and the course of the Faculty for Advanced Training & Retraining. E-mail: gsomd2011@gmail.com – Sergei O. Goldytiski.

ЭХОКАРДИОГРАФИЧЕСКИЕ КРИТЕРИИ ДИАСТОЛИЧЕСКОЙ ДИСФУНКЦИИ ЛЕВОГО ЖЕЛУДОЧКА И ИХ ДИАГНОСТИЧЕСКАЯ НАДЕЖНОСТЬ

ЖЕРКО О.М.

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

Вестник ВГМУ. – 2020. – Том 19, №3. – С. 87-95.

ECHOCARDIOGRAPHIC CRITERIA OF DIASTOLIC DYSFUNCTION OF THE LEFT VENTRICLE AND THEIR DIAGNOSTIC RELIABILITY

ZHERKO O.M.

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

Vestnik VGMU. 2020;19(3):87-95.

Резюме.

Цель исследования – оценить диагностическую надежность эхокардиографических критериев диастолической дисфункции (ДД) левого желудочка (ЛЖ).

Материал и методы. В 2017-2018 гг. выполнено клинико-инструментальное обследование 303 пациентов в возрасте 40-86 лет. Критерии включения: синусовый ритм, эссенциальная артериальная гипертензия, хроническая ишемическая болезнь сердца, перенесенный в прошлом инфаркт миокарда, хроническая сердечная недостаточность. Критерии исключения: первичная митральная регургитация, митральный стеноз, пластика или протезирование митрального клапана, врожденные пороки сердца. Трансторакальная эхокардиография выполнена на ультразвуковом аппарате Siemens Acuson S1000 (Германия).

Результаты. При скорости пика E трансмитрального кровотока (МК) $\leq 0,51$ м/сек, значениях $E/A \leq 0,79$, времени замедления $DT_E > 200$ мсек диагностируют ДД ЛЖ I типа. Прогностическим для ДД ЛЖ I типа является индекс массы миокарда ЛЖ у мужчин $> 133,9$ г/м², у женщин $> 119,7$ г/м². Диагностическим для ДД ЛЖ II типа является комплекс критериев: скорость пика $e'_{septal} \leq 7$ см/сек, индекс наполнения ЛЖ $E/e'_{septal} \geq 9$, скорость трикуспидальной регургитации (ТР) $> 2,62$ м/сек, индекс объема левого предсердия (ЛП) $> 35,7$ мл/м², отношение E/A МК $0,80-1,86$, дополнительные критерии – индексы наполнения ЛЖ $E/e'_{среднее}$ и $E/e'_{латераль} \geq 9$, скорость пика $e'_{латераль} \leq 8$ см/сек, фракция выброса (ФВ) ЛЖ $\leq 53\%$, давление заклинивания легочных капилляров (ДЗЛК) $> 11,51$ мм рт. ст., систолическое давление в легочной артерии (СД ЛА) $> 33,5$ мм рт. ст. При значении E/A МК $> 1,86$, ФВ ЛЖ $\leq 49,51\%$ диагностируют ДД ЛЖ III типа, дополнительные критерии – значение DT_E МК ≤ 146 мсек, скорость ТР $> 2,81$ м/сек, ДЗЛК $> 13,68$ мм рт. ст., СД ЛА $> 41,2$ мм рт. ст. При индексе наполнения ЛЖ $E/e'_{septal} > 11,5$, скорости $e'_{septal} \leq 6$ см/сек, индексе объема ЛП $> 43,3$ мл/м² у пациента повышено давление наполнения ЛЖ в покое, дополнительные критерии – ФВ ЛЖ $\leq 49,51\%$, показатель $A_{dur} - A_{dur}$ > 32 мсек, ДЗЛК $> 13,56$ мм рт. ст., СД ЛА $> 31,5$ мм рт. ст.

Заключение. Критерии определения ДД ЛЖ обладают высокими показателями надежности – чувствительностью и специфичностью.

Ключевые слова: эхокардиография, диастолическая дисфункция, левый желудочек, хроническая сердечная недостаточность.

Abstract.

Objectives. To assess the diagnostic reliability of the echocardiographic criteria of the left ventricle (LV) diastolic dysfunction (DD).

Material and methods. In 2017-2018, a clinical and instrumental examination of 303 patients aged 40-86 years was performed. Inclusion criteria: sinus rhythm, essential arterial hypertension, chronic ischemic heart disease, previous myocardial infarction, chronic heart failure. Exclusion criteria: primary mitral regurgitation, mitral stenosis, plastic surgery or mitral valve replacement, congenital heart disease. Transthoracic echocardiography was performed on the

Siemens Acuson S1000 ultrasound machine (Germany).

Results. LV DD type I is diagnosed when the velocity of peak E transmitral blood flow (MV) is ≤ 0.51 m/s, the value of E/A ≤ 0.79 , a peak deceleration time of peak E (DT_E) > 200 ms. The prognostic criterion of LV DD type I is the LV myocardial mass index in men > 133.9 g/m², in women > 119.7 g/m². Diagnostic for DD LV of type II is criteria complex: the ratio E/A MV 0.80-1.86, e'_{septal} peak velocity ≤ 7 cm/s, LV filling index $E/e'_{\text{septal}} \geq 9$, tricuspid regurgitation (TR) velocity > 2.62 m/s, left atrial (LA) volume index > 35.7 ml/m², additional criteria are LV filling indices E/e'_{average} and $E/e'_{\text{lateral}} \geq 9$, e'_{lateral} peak velocity ≤ 8 cm/sec, LV ejection fraction (EF) $\leq 53\%$, pulmonary capillary wedge pressure (PCWP) > 11.51 mm Hg, systolic pressure in the pulmonary artery (PA SP) > 33.5 mm Hg. When E/A MV > 1.86 , LV EF $\leq 49.51\%$, DD LV type III is diagnosed, the additional criteria being DT_E MK ≤ 146 ms, TR velocities > 2.81 m/s, PCWP > 13.68 mm Hg, PA SP > 41.2 mm Hg. When the LV filling index E/e'_{septal} is > 11.5 , the velocity e'_{septal} is ≤ 6 cm/s, the LA volume index is > 43.3 ml/m², the patient has an elevated LV filling pressure at rest, additional criteria are LV EF $\leq 49.51\%$, $Ar_{\text{dur}} - A_{\text{dur}} > 32$ ms, PCWP > 13.56 mm Hg, PA SP > 31.5 mm Hg.

Conclusions. The criteria for determining LV DD posses high reliability indicators of sensitivity and specificity.

Key words: echocardiography, diastolic dysfunction, left ventricle, chronic heart failure.

Диастолическая дисфункция (ДД) левого желудочка (ЛЖ) является результатом замедления процессов релаксации, нарушения диастолического наполнения и увеличения жесткости ЛЖ [1], ведущей патофизиологической аномалией у пациентов с хронической сердечной недостаточностью (ХСН) с сохраненной и умеренно сниженной фракцией выброса (ФВ) ЛЖ [2]. Основное последствие ДД ЛЖ – повышение давления наполнения ЛЖ – важная детерминанта толерантности к физической нагрузке у пациентов с ХСН [1, 3], гемодинамический механизм развития легочной конгестии и посткапиллярной легочной гипертензии, прогрессии ХСН [4]. ДД ЛЖ достоверно связана с более высокими показателями сердечно-сосудистых осложнений, госпитализациями по поводу ХСН, смертности [5]. Этиологическими факторами ДД ЛЖ являются болезни миокарда, иммуномедиаторные и воспалительные влияния, инфильтративные заболевания, аномалии нагрузки – эссенциальная артериальная гипертензия (АГ), перегрузка объемом ЛЖ и другие [1, 2]. Нарушение диастолической функции ЛЖ является ранним признаком хронического коронарного синдрома, может быть индикатором микроваскулярной дисфункции [6]. В последнем случае формируется интерстициальный фиброз, изменение паракринной сигнализации кардиомиоцитам, которые становятся жесткими и гипертрофируются [7]. В общей европейской популяции частота ДД ЛЖ составляет 27,3% [8].

Известные методики ультразвуковой диагностики ДД ЛЖ [1, 9, 10] имеют несколько алгоритмов, «слепые зоны» – комбинации ультразвуковых признаков, когда ДД ЛЖ не может быть

определена, неизвестна диагностическая надежность – чувствительность и специфичность представленных критериев диагностики ДД ЛЖ.

Цель исследования – оценить диагностическую надежность эхокардиографических критериев ДД ЛЖ.

Материал и методы

В 2017-2018 годах на базе УЗ «1-я городская клиническая больница» г. Минска выполнено клиничко-инструментальное обследование 303 пациентов, из них 141 (46,5%) мужчина и 162 (53,5%) женщины в возрасте 40-86 (67 [59; 76]) лет. Критерии включения в исследование: синусовый ритм, эссенциальная АГ, хроническая ишемическая болезнь сердца (ИБС), перенесенный в прошлом инфаркт миокарда (ИМ) ЛЖ, после которого прошло не менее полугода, для стабилизации структурно-функциональных характеристик ЛЖ, ХСН. Критерии исключения: первичная митральная регургитация, митральный стеноз, пластика или протезирование митрального клапана, врожденные пороки сердца, острые и хронические заболевания почек, легких.

Трансторакальная эхокардиография выполнялась на ультразвуковом аппарате Siemens Acuson S1000 (Германия). ФВ ЛЖ и индекс конечно-систолического объема левого предсердия (ЛП) рассчитывались биплановой методикой дисков Simpson, масса миокарда ЛЖ – алгоритмом площадь-длина в 2D-режиме. Индекс массы миокарда (ИММ) ЛЖ определялся путем соотношения массы миокарда и площади тела пациента. Скорости пиков E, A, отношение E/A, время замедления пика E (DT_E) трансмитрального кровотока

тока (МК), пиковая скорость раннего диастолического движения септальной (e'_{septal}) и латеральной (e'_{lateral}) частей митрального фиброзного кольца, индексы раннего диастолического наполнения ЛЖ (E/e'_{septal} , E/e'_{lateral} , $E/e'_{\text{среднее}}$), пиковая систолическая скорость трикуспидальной регургитации (ТР) определялись по стандартной методике. Показатель $A_{\text{dur}} - A_{\text{dur}}$ рассчитывался как различие длительностей пика $A_{\text{г}}$ в легочной вене ($A_{\text{г,dur}}$) и пика A (A_{dur}) МК, измеренных в режиме импульсно-волновой доплерографии при локации кровотока в устье верхней правой легочной вены и на уровне митрального фиброзного кольца, соответственно. Систолическое давление в легочной артерии (СД ЛА) и в правом желудочке (ПЖ) определялось как сумма максимального систолического градиента трикуспидальной регургитации (ТР) и давления в правом предсердии [10, 11].

Среднее давление заклинивания легочных капилляров (ДЗЛК) рассчитывалось по формуле [10]:

$$\text{ДЗЛК} = 1,24 \times E/e' + 1,9,$$

где:

E – пиковая скорость раннедиастолического трансмитрального потока;

e' – пиковая скорость раннего диастолического движения латеральной части митрального фиброзного кольца.

Для достижения поставленной цели к контрольной группе ($n=91$) отнесены пациенты без ДД ЛЖ, к основной группе ($n=212$) – пациенты с ДД ЛЖ. В основной группе выделены группы сравнения: группа 1 пациентов с ДД ЛЖ I типа ($n=104$), группа 2 – с ДД ЛЖ II типа ($n=91$), группа 3 – с ДД ЛЖ III типа ($n=17$).

Для статистического анализа выполненных исследований создана база данных в среде Excel-2013, ее дальнейшую статистическую обработку осуществляли с помощью пакета прикладных программ STATISTICA (v8.0), результаты оценивали с использованием непараметрических методов. Количественные значения изучаемых признаков представляли в виде медианы и интерквартильного размаха (Me [LQ; UQ]). Для сравнения контрольной и основной групп по количественным признакам применен U-критерий Манна-Уитни, по качественным признакам – метод Пирсона и максимального правдоподобия χ^2 . Для оценки взаимосвязей между рассматриваемыми признаками рассчитывали коэффициент

корреляции по Спирмену (r). Для прогнозирования развития ДД ЛЖ и отбора наиболее сильных связей использовали метод логистического регрессионного анализа с обратным пошаговым отбором показателей, имевших достоверные регрессионные коэффициенты ($p<0,05$), и построением логит-уравнения. ROC-анализ применяли при разработке ультразвуковых критериев, чувствительных и специфичных для диагностики ДД ЛЖ. Статистически значимыми считали различия при $p<0,05$.

Результаты

Контрольная и основная группы сопоставимы по возрасту, индексу массы тела (ИМТ), частоте сердечных сокращений ($U=12013,50$, $p=0,36$), частоте и степени АГ, распространенности хронической ИБС в формах атеросклеротической болезни сердца и перенесенного в прошлом ИМ, достоверно различались по уровню заболеваемости ХСН, функциональным классам (ФК) ХСН по NYHA, показателям NT-proBNP и эхокардиографии (табл. 1, 2).

У 30,8% пациентов с ДД ЛЖ I типа имела место ХСН ФК I-II по NYHA (табл. 2). Между ДД ЛЖ I типа и скоростью пика E , отношением E/A , временем замедления DT_E МК, ИММ ЛЖ определены статистически значимые связи ($r=-0,78$, $p=0,001$, $r=-0,69$, $p<0,001$, $r=-0,44$, $p<0,001$, $r=0,25$, $p=0,0004$).

Диагностические для ДД ЛЖ I типа значения скорости пика E МК установлены $\leq 0,51$ м/сек, отношения E/A МК $\leq 0,79$, DT_E МК >200 мсек. Прогностические для ДД ЛЖ I типа показатели ИММ ЛЖ у мужчин составляют $>133,9$ г/м², у женщин $>119,7$ г/м². Характеристики надежности прогностических / диагностических критериев ДД ЛЖ по данным ROC-анализа приведены в таблице 3.

У 100% обследованных пациентов с ДД ЛЖ II типа имела место ХСН: в 56,0% наблюдений диагностирована ХСН ФК II, 36,3% – ФК III, в 7,7% – ХСН ФК IV по NYHA; у 48,4% пациентов определена ХСН с сохраненной ФВ ($\geq 50\%$), у 51,6% – ХСН со сниженной ФВ ($<50\%$) (табл. 2). По данным корреляционного анализа установлены статистически значимые взаимосвязи между ДД ЛЖ II типа и тяжестью ХСН, классифицированной согласно ФВ ЛЖ ($r=0,70$, $p<0,001$), индексами раннего диастолического наполнения ЛЖ E/e'_{septal} ($r=0,70$, $p<0,001$), $E/e'_{\text{среднее}}$ ($r=0,61$, $p<0,001$),

Таблица 1 – Характеристики пациентов контрольной и основной групп

Признак	Контрольная группа (n=91)	Основная группа (n=212)	p
Возраст, лет	64 [55; 73]	67 [60; 76]	U=8824,0, p=0,24
ИМТ, кг/м ²	31,0 [27,6; 35,5]	30,5 [27,1; 35,1]	U=5805,5, p=0,74
АГ, % (n)	100 (91)	100 (212)	-
Степень АГ	2 [2; 3]	2 [2; 3]	$\chi^2=5,04$, p=0,28
Хроническая ИБС, % (n)	68,1 (62)	75,0 (159)	$\chi^2=1,52$, p=0,22
Перенесенный ИМ, % (n)	17,6 (16)	28,8 (61)	$\chi^2=4,21$, p=0,04
ХСН, % (n)	30,8 (28)	66,0 (140)	$\chi^2=32,06$, p<0,001
ФК ХСН NYHA	I [I; I]	II [I; III]	$\chi^2=39,13$, p<0,001
NT-proBNP, пг/мл	122,5 [81,4; 278,5]	345,0 [149,0; 788,0]	U=17693,0, p <0,001

Таблица 2 – Показатели, характеризующие диастолическую дисфункцию левого желудочка у пациентов контрольной группы и групп сравнения

Признак	Контрольная группа	Группы сравнения			p
		ДД ЛЖ I	ДД ЛЖ II	ДД ЛЖ III	
ХСН, % (n)	30,8 (28)	30,8 (32)	100,0 (91)	100,0 (17)	$\chi^2=134,85$, p<0,001
ФК ХСН NYHA	I [I; I]	I [I; I]	II [II; III]	III [III; IV]	$\chi^2=212,65$, p<0,001
NT-proBNP, пг/мл	122,5 [81,35; 278,5]	108,0 [46,7; 246,0]	791,0 [346,0; 4379,0]	5133,0 [1306,0; 7126,0]	H=103,30, p<0,001
ФВ ЛЖ, %	59,7 [55,7; 64,8]	64,0 [57,2; 69,0]	49,2 [43,4; 56,4]	38,4 [32,0; 42,8]	H=79,37, p<0,001
ИММ ЛЖ, г/м ²	112,2 [97,0; 126,8]	124,8 [103,4; 147,9]	131,5 [110,3; 159,1]	166,8 [129,2; 185,5]	H=40,02, p<0,001
Индекс объема ЛП, мл/м ²	35,4 [27,3; 41,8]	32,3 [25,8; 37,4]	45,5 [37,3; 51,5]	55,2 [53,6; 64,1]	H=109,66, p<0,001
DT _E , мсек	165 [139; 193]	221 [200; 293]	143 [133; 154]	121 [100; 125]	H=126,78, p<0,001
e' _{septal} , см/сек	9,0 [7,0; 11,0]	7,0 [6,0; 9,0]	6,0 [5,0; 7,0]	4,0 [3,0; 6,0]	H=136,81, p<0,001
E/e' _{septal}	6,3 [5,1; 8,0]	7,3 [5,4; 9,0]	11,8 [9,8; 13,0]	15,0 [14,0; 16,9]	H=191,54, p<0,001
e' _{lateral} , см/сек	10,0 [8,0; 13,0]	9,0 [6,0; 11,0]	8,0 [6,0; 9,0]	7,0 [6,0; 7,5]	H=76,41, p<0,001
E/e' _{lateral}	5,6 [4,5; 7,5]	6,5 [4,6; 9,7]	10,7 [9,1; 11,8]	13,5 [11,2; 15,2]	H=139,75, p<0,001
E/e' _{среднее}	6,1 [4,7; 7,8]	6,4 [4,7; 9,7]	10,9 [9,7; 12,5]	14,5 [12,8; 15,7]	H=173,93, p<0,001
TR, м/сек	1,83 [1,32; 2,50]	1,54 [1,24; 2,0]	2,89 [2,81; 2,97]	3,08 [2,89; 3,60]	H=126,35, p<0,001
ДЗЛК, мм рт. ст.	8,98 [7,51; 10,99]	7,23 [6,58; 9,19]	13,68 [11,13; 15,75]	14,92 [12,44; 16,16]	H=130,71, p<0,001
СД ЛА, мм рт. ст.	16,9 [10,1; 28,4]	12,5 [9,2; 19,0]	37,3 [34,8; 46,0]	52,2 [47,3; 66,8]	H=156,55, p<0,001

$E/e'_{lateral}$ ($r=-0,50$, $p<0,001$), скоростями раннего диастолического движения митрального фиброзного кольца e'_{septal} ($r=-0,67$, $p<0,001$), $e'_{lateral}$ ($r=-0,49$, $p<0,001$), скоростью ТР ($r=0,59$, $p<0,001$), индексом объема ЛП ($r=0,41$, $p<0,001$), ФВ ЛЖ ($r=-0,55$, $p<0,001$), средним ДЗЛК ($r=0,65$, $p<0,001$), СД ЛА ($r=0,63$, $p<0,001$).

Логит-уравнение прогнозирования ДД ЛЖ II типа (Y_1) определило наиболее сильные взаимосвязи:

$$Y_1 = -8,26 - 67,66 \times e'_{septal} + \\ + 0,43 \times E/e'_{septal} + \\ + 2,56 \times ТР + 0,07 \times \text{Индекс объема ЛП} \\ \chi^2=128,30, p<0,001.$$

Прогностические для ДД ЛЖ II типа значения скорости $e'_{septal} \leq 7$ см/сек, $e'_{lateral} \leq 8$ см/сек, индексов наполнения ЛЖ $E/e'_{septal} \leq 9$, $E/e'_{lateral} \geq 9$, $E/e'_{среднее} \geq 9$, скорости ТР $> 2,62$ м/сек, индекса объема ЛП $> 35,7$ мл/м², ФВ ЛЖ установлены $\leq 53,0\%$ [12], ДЗЛК $> 11,51$ мм рт. ст., СД ЛА $> 33,5$ мм рт. ст. (табл. 3).

У 100% пациентов с ДД ЛЖ III типа определены ХСН ФК III и IV по NYHA и систолическая дисфункция ЛЖ (табл. 2). Статистически значимые взаимосвязи имели место между ДД ЛЖ III типа и показателями E/A МК ($r=0,69$, $p<0,001$), ФВ ЛЖ ($r=-0,69$, $p<0,001$), средним ДЗЛК ($r=0,66$, $p<0,001$), СД ЛА ($r=0,65$, $p<0,001$), скоростью ТР ($r=0,55$, $p<0,001$).

Уравнение логит-регрессии для прогнозирования ДД ЛЖ III типа:

$$Y_2 = 3,62 + 10,96 \times E/A_{МК} - 0,49 \times \text{ФВ ЛЖ} \\ \chi^2=80,91, p<0,001.$$

Прогностические для ДД ЛЖ III типа значения отношения E/A МК установлены $> 1,86$, ФВ ЛЖ $\leq 49,51\%$, время замедления DT_E МК ≤ 146 мсек, скорость ТР $> 2,81$ м/сек, ДЗЛК $> 13,68$ мм рт. ст., СД ЛА $> 41,2$ мм рт. ст. (табл. 3).

При наличии у пациента ДД ЛЖ следует производить расчет показателей, чувствительных и специфичных для повышенного в покое давления наполнения ЛЖ. Установлены статистически значимые взаимосвязи между повышенным давлением наполнения ЛЖ и индексом объема ЛП ($r=0,43$, $p<0,001$), скоростью раннего систолического движения септальной части митрального фиброзного кольца e'_{septal} ($r=-0,49$, $p<0,001$), индексом раннего диастолического наполнения

ЛЖ E/e'_{septal} ($r=0,71$, $p<0,001$), ФВ ЛЖ ($r=-0,53$, $p<0,001$), $Ar_{dur} - A_{dur}$ ($r=0,49$, $p<0,001$), DT_E ($r=-0,40$, $p<0,001$), ДЗЛК ($r=0,54$, $p<0,001$), СД ЛА ($r=0,42$, $p<0,001$).

Прогностическими для повышенного в покое давления наполнения ЛЖ являются значения индекса объема ЛП $> 43,3$ мл/м², $E/e'_{septal} > 11,5$, $e'_{septal} \leq 6$ см/сек, ФВ ЛЖ $\leq 49,51\%$, показателя $Ar_{dur} - A_{dur} > 32$ мсек, времени замедления $DT_E \leq 155$ мсек [4, 12, 13], ДЗЛК $> 13,56$ мм рт. ст., СД ЛА $> 31,5$ мм рт. ст. (табл. 3).

Обсуждение

Нарушение диастолической функции ЛЖ формируется на ранних этапах течения болезней сердца. В последних рекомендациях Европейского общества кардиологов по сердечной недостаточности подчеркивается необходимость своевременного выявления субклинической дисфункции ЛЖ и факторов риска развития симптоматической сердечной недостаточности [1, 2].

В данном исследовании на этапе одномерного анализа определена сила взаимосвязи между ДД ЛЖ и ее ультразвуковыми характеристиками. Методом логистического регрессионного анализа выполнен отбор наиболее сильных связей с построением логит-модели прогнозирования вероятности развития ДД ЛЖ II и III типов, что позволяет выделить комбинацию основных и дополнительных критериев, алгоритм диагностики высоких типов ДД ЛЖ у пациентов с синусовым ритмом, без первичной митральной регургитации, митрального стеноза, пластики или протезирования митрального клапана, врожденных пороков сердца. На основании ROC-анализа определены пороговые значения и диагностическая надежность каждого из известных критериев, характеризующих структурные и гемодинамические аномалии при ДД ЛЖ.

Кроме того, разработаны новые диагностические критерии глобального ремоделирования сердца при развитии и прогрессии ДД ЛЖ, в частности ИММ ЛЖ у мужчин и женщин, взаимосвязанного с развитием ДД ЛЖ I типа, ФВ ЛЖ, среднего ДЗЛК, СД ЛА при ДД ЛЖ высоких типов и повышенном в покое давлении наполнения ЛЖ, пиковой систолической скорости ТР при ДД ЛЖ III типа, обладающие высокими показателями надежности. Впервые разработанные критерии повышенного в покое давления наполнения ЛЖ также являются диагностически надежными.

Таблица 3 – Показатели надежности прогностических критериев диастолической дисфункции левого желудочка по данным ROC-анализа

Критерий	AUC (95% ДИ) p<0,0001	Индекс Юдена	Чувстви- тельность, % (95% ДИ)	Специфич- ность, % (95% ДИ)	+LR (95% ДИ)	-LR (95% ДИ)
ДД ЛЖ I типа						
Скорость E МК ≤0,51 м/сек	0,96 (0,93-0,98)	0,86	95,2 (89,2-98,4)	90,8 (84,2-95,3)	10,39 (5,9-18,3)	0,05 (0,02-0,1)
E/A МК ≤0,79	0,92 (0,93-0,98)	0,86	99,1 (94,8-100,0)	69,8 (60,7-77,8)	3,27 (2,5-4,3)	0,01 (0,02-0,1)
DT _E >200 мсек	0,77 (0,71-0,83)	0,45	59,1 (49,0-68,5)	86,3 (78,7-92,0)	4,32 (2,7-7,0)	0,47 (0,4-0,6)
ИММ ЛЖ у мужчин >133,9 г/м ²	0,82 (0,68-0,91)	0,56	60,7 (40,6-78,5)	95,2 (76,2-99,9)	12,75 (1,8-88,4)	0,41 (0,3-0,7)
ИММ ЛЖ у женщин >119,7 г/м ²	0,80 (0,68-0,89)	0,53	64,3 (44,1-81,4)	89,2 (74,6-97,0)	5,95 (2,3-15,6)	0,40 (0,2 - 0,7)
ДД ЛЖ II типа						
e' _{septal} ≤7 см/сек	0,91 (0,87-0,95)	0,69	85,7 (76,8-92,2)	83,3 (75,4-89,5)	5,14 (3,4-5,7)	0,17 (0,1-0,3)
E/e' _{septal} ≥9	0,94 (0,90-0,97)	0,80	91,2 (83,4-96,1)	89,2 (82,2-94,1)	8,42 (5,0-14,1)	0,10 (0,05-0,2)
Скорость TP >2,62 м/сек	0,90 (0,85-0,93)	0,71	88,9 (80,5-94,5)	81,7 (73,6-88,1)	4,85 (3,3-7,1)	0,14 (0,08-0,2)
Индекс объема ЛП >35,7 мл/м ²	0,82 (0,77-0,87)	0,52	89,0 (80,7-94,6)	63,0 (53,7-71,7)	2,41 (1,9-3,1)	0,17 (0,1-0,3)
E/e' _{среднее} ≥9	0,86 (0,79-0,91)	0,56	72,5 (62,2-81,4)	83,3 (72,1-91,4)	4,35 (2,5-7,6)	0,33 (0,2-0,5)
e' _{lateral} ≤8 см/сек	0,78 (0,71-0,85)	0,44	72,5 (62,2-81,4)	71,2 (58,7-81,7)	2,52 (1,7-3,8)	0,39 (0,3-0,6)
E/e' _{lateral} ≥9	0,79 (0,70-0,86)	0,47	72,5 (62,2-81,4)	74,2 (62,0-84,2)	2,82 (1,8-4,3)	0,37 (0,3-0,5)
ФВ ЛЖ ≤53,0%	0,84 (0,78-0,89)	0,58	65,8 (55,3-75,5)	92,5 (86,2-96,5)	8,79 (4,6-16,8)	0,37 (0,3-0,5)
ДЗЛК >11,51 мм рт. ст.	0,83 (0,77-0,87)	0,54	74,7 (64,5-83,3)	79,2 (70,8-86,0)	3,59 (2,5-5,2)	0,32 (0,2-0,5)
СД ЛА >33,5 мм рт. ст.	0,87 (0,81-0,92)	0,64	83,5 (74,3-90,5)	80,3 (68,7-89,1)	4,24 (2,6-7,0)	0,21 (0,1-0,3)
ДД ЛЖ III типа						
E/A МК >1,86	1,00 (0,97-1,00)	1,00	100,0 (79,4-100,0)	100,0 (86,9-100,0)		0,00
ФВ ЛЖ ≤49,51%	0,99 (0,97-1,0)	0,98	100,0 (80,5-100,0)	98,3 (85,1-98,9)	60,00 (15,2-37,1)	0,00
DT _E ≤146 мсек	0,91 (0,83-0,97)	0,71	100,0 (80,5-100,0)	71,2 (58,7-81,7)	3,47 (2,4-5,1)	0,00
Скорость TP >2,81 м/сек	0,89 (0,85-0,95)	0,75	88,2 (63,6-98,5)	86,4 (75,7-93,6)	6,47 (3,4-12,2)	0,14 (0,04-0,5)
ДЗЛК >13,68 мм рт. ст.	0,87 (0,78-0,94)	0,63	70,6 (44,0-89,7)	92,4 (83,2-97,5)	9,32 (3,8-22,8)	0,32 (0,2-0,7)
СД ЛА >41,2 мм рт. ст.	0,92 (0,84-0,97)	0,79	82,4 (56,6-96,2)	97,0 (89,5-99,6)	27,18 (6,8-108)	0,18 (0,07-0,5)

Продолжение таблицы 3

Критерий	AUC (95% ДИ) p<0,0001	Индекс Юдена	Чувстви- тельность, % (95% ДИ)	Специфич- ность, % (95% ДИ)	+LR (95% ДИ)	-LR (95% ДИ)
Повышенное в покое давление наполнения ЛЖ						
Индекс объема ЛП >43,3 мл/м ²	0,84 (0,78-0,88)	0,56	83,3 (68,6-93,0)	72,8 (65,7-79,1)	3,06 (2,3-4,0)	0,23 (0,1-0,5)
E/e' _{septal} >11,5	0,97 (0,94-0,99)	0,89	93,0 (80,9-98,5)	96,4 (92,7-98,5)	25,91 (12,5-53,9)	0,07 (0,02-0,2)
e' _{septal} ≤ 6 см/сек	0,93 (0,89-0,96)	0,66	87,7 (82,3-91,2)	78,8 (77,9-94,2)	4,14 (3,1-5,6)	0,16 (0,08-0,3)
ФВ ЛЖ ≤49,51%	0,82 (0,76-0,88)	0,58	79,5 (67,2-89,0)	78,6 (69,8-85,8)	3,72 (2,5-5,4)	0,26 (0,2-0,4)
A _{dur} -A _{dur} >32 мсек	0,81 (0,78-0,87)	0,58	78,0 (64,0-88,5)	71,4 (63,0-78,9)	2,73 (2,0-3,7)	0,31 (0,2-0,5)
DT _E ≤155 мсек	0,83 (0,78-0,88)	0,57	96,5 (87,7-99,6)	60,6 (53,3-67,7)	2,45 (2,0-2,9)	0,059 (0,02-0,2)
ДЗЛК >13,56 мм рт. ст.	0,96 (0,92-0,99)	0,78	78,8 (67,0-87,9)	98,8 (93,6-100,0)	4,20 (2,7-6,5)	0,35 (0,2-0,5)
СД ЛА >31,5 мм рт. ст.	0,95 (0,91-0,98)	0,85	88,6 (80,9-94,0)	96,2 (89,2-99,2)	23,03 (7,6-70,0)	0,12 (0,07-0,2)

Повышенное в покое давление наполнения ЛЖ является одним из важнейших последствий диастолической и систолической дисфункции ЛЖ, гемодинамическим механизмом и маркером прогрессии ХСН: установлены корреляционные связи с высокими типами ДД ЛЖ (r=0,9, p=0,001), систолической дисфункцией ЛЖ (r=0,57, p<0,001), развитием посткапиллярной легочной гипертензии (r=0,63, p<0,001), систолической дисфункцией ПЖ (r=0,59, p<0,001). Также определены достоверные взаимосвязи между посткапиллярной легочной гипертензией и систолической дисфункцией ПЖ (r=0,78, p<0,01), ДД ПЖ (r=0,46, p<0,001). Применение диастолического стресс-теста для диагностики ДД ЛЖ в клинической практике имеет существенные ограничения: как правило, достигнуть диагностически значимых уровней физической нагрузки не возможно вследствие одышки, усталости, коморбидности (например, ожирения, суставной патологии), отказа пациента от выполнения теста. Поэтому представляется важным разработка научно обоснованного подхода к диагностике ДД ЛЖ, повышенного в покое давления наполнения ЛЖ.

Диастолическое давление в ЛЖ подобно давлению в ЛП и легочному капиллярному давлению, потому что эти структуры имеют открытое сообщение с ЛЖ во время диастолы. Повышенное давление наполнения ЛЖ, в дополнение к замед-

ленной релаксации и повышенной оперативной жесткости ЛЖ при ДД ЛЖ и ХСН, еще сильнее затрудняет приток крови в ЛЖ, приводит к формированию легочной конгестии, росту ДЗЛК, что вызывает повышение СД ЛА, постнагрузки на ПЖ. ДЗЛК является независимым показателем, характеризующим давление наполнения ЛЖ или среднее диастолическое давление в ЛЖ, среднее давление в ЛП, формирование посткапиллярной легочной гипертензии [10]. Согласно существующему определению, ДД подразумевает неспособность ЛЖ принимать объем крови, необходимый для поддержания достаточного сердечного выброса при нормальном среднем давлении в легочных венах – менее 12 мм рт. ст. [14, 15], применение разработанного критерия среднего ДЗЛК позволяет объективизировать определение типов ДД ЛЖ и повышенного в покое давления наполнения ЛЖ.

Заключение

Диагностическим для ДД ЛЖ I типа (замедленной релаксации) является комплекс показателей: скорость пика E трансмитрального кровотока ≤0,51 м/сек (чувствительность 95,2%, специфичность 90,8%), значение E/A ≤0,79 (чувствительность 99,1%, специфичность 69,8%), время замедления DT_E >200 мсек (чувствитель-

ность 59,1%, специфичность 86,3%). Прогностическим для ДД ЛЖ I типа является ИММ ЛЖ у мужчин $>133,9$ г/м² (чувствительность 60,7%, специфичность 95,2%), у женщин $>119,7$ г/м² (чувствительность 64,3%, специфичность 89,2%).

Диагностическим для ДД ЛЖ II типа (псевдонормализации) является комплекс показателей: пиковая скорость раннего диастолического движения септальной части митрального фиброзного кольца $e'_{\text{septal}} \leq 7$ см/сек (чувствительность 85,7%, специфичность 83,3%), индекс раннего диастолического наполнения ЛЖ $E/e'_{\text{septal}} \geq 9$ (чувствительность 91,2%, специфичность 89,2%), пиковая систолическая скорость $TR > 2,62$ м/сек (чувствительность 88,9%, специфичность 81,7%), конечно-систолический индекс объема ЛП $> 35,7$ мл/м² (чувствительность 89,0%, специфичность 63,0%), отношение Е/А трансмитрального кровотока 0,80-1,86. Дополнительными критериями диагностики являются индексы раннего диастолического наполнения ЛЖ $E/e'_{\text{среднее}} \geq 9$ (чувствительность 72,5%, специфичность 83,3%), $E/e'_{\text{lateral}} \geq 9$ (чувствительность 72,5%, специфичность 74,2%), скорость раннего диастолического движения латеральной части митрального фиброзного кольца $e'_{\text{lateral}} \leq 8$ см/сек (чувствительность 72,5%, специфичность 71,2%), ФВ ЛЖ $\leq 53,0\%$ (чувствительность 65,8%, специфичность 92,5%), ДЗЛК $> 11,51$ мм рт. ст. (чувствительность 74,7%, специфичность 79,2%), СД ЛА $> 33,5$ мм рт. ст. (чувствительность 83,5%, специфичность 80,3%).

При показателе Е/А трансмитрального кровотока $> 1,86$ (чувствительность 100,0%, специфичность 100,0%), ФВ ЛЖ $\leq 49,5\%$ (чувствительность 100,0%, специфичность 98,3%) у пациента имеет место ДД ЛЖ III типа (рестрикции), дополнительные критерии – время замедления $DT_E \leq 146$ мсек (чувствительность 100,0%, специфичность 71,2%), пиковая скорость $TR > 2,81$ м/сек (чувствительность 88,2%, специфичность 86,4%), ДЗЛК $> 13,68$ мм рт. ст. (чувствительность 70,6%, специфичность 92,4%), СД ЛА $> 41,2$ мм рт. ст. (чувствительность 82,4%, специфичность 97,0%).

При индексе раннего диастолического наполнения ЛЖ $E/e'_{\text{septal}} > 11,5$ (чувствительность 93,0%, специфичность 96,4%), пиковой скорости раннего диастолического движения митрального фиброзного кольца $e'_{\text{septal}} \leq 6$ см/сек (чувствительность 87,7%, специфичность 78,8%), индексе конечно-систолического объема ЛП $> 43,3$ мл/м²

(чувствительность 83,3%, специфичность 72,8%) у пациента повышено давление наполнения ЛЖ в покое. Дополнительными критериями диагностики являются ФВ ЛЖ $\leq 49,51\%$ (чувствительность 79,5%, специфичность 78,6%), показатель $Ar_{\text{dur}} - A_{\text{dur}} > 32$ мсек (чувствительность 78,0%, специфичность 71,4%), время замедления $DT_E \leq 155$ мсек (чувствительность 96,5%, специфичность 60,6%), ДЗЛК $> 13,56$ мм рт. ст. (чувствительность 78,8%, специфичность 98,8%), СД ЛА $> 31,5$ мм рт. ст. (чувствительность 88,6%, специфичность 96,2%).

Литература

1. Recommendations for the Evaluation of Left Ventricular Diastolic Function by Echocardiography: An Update from the American Society of Echocardiography and the European Association of Cardiovascular Imaging / S. F. Nagueh [et al.] // J. Am. Soc. Echocardiogr. – 2016 Apr. – Vol. 29, N 4. – P. 277–314.
2. 2016 ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure: The Task Force for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure of the European Society of Cardiology (ESC). Developed with the special contribution of the Heart Failure Association (HFA) of the ESC / P. Ponikowski [et al.] // Europ. Heart J. – 2016 Jul. – Vol. 37, N 27. – P. 2129–2200.
3. Овчинников, А. Г. Ультразвуковое исследование в оценке диастолического давления в левом желудочке / А. Г. Овчинников, Ф. Т. Агеев // Сердеч. недостаточность. – 2009. – Т. 10, № 4. – С. 221–236.
4. Жерко, О. М. Давление наполнения левого желудочка как гемодинамический механизм прогрессии хронической сердечной недостаточности / О. М. Жерко // Здравоохранение. – 2019. – № 10. – С. 5–9.
5. Left Ventricular Diastolic Function and Long-Term Outcomes in Patients With Normal Exercise Echocardiographic Findings / M. Gharacholou [et al.] // Am. J. Cardiol. – 2013 Jul. – Vol. 112, N 2. – P. 200–207.
6. 2019 ESC Guidelines for the diagnosis and management of chronic coronary syndromes / J. Knuuti [et al.] // Eur. Heart J. – 2020 Jan. – Vol. 41, N 3. – P. 407–477.
7. Zhang, Y. Immune mechanisms in heart failure / Y. Zhang, J. Bauersachs, H. F. Langer // Eur. J. Heart Fail. – 2017 Nov. – Vol. 19, N 11. – P. 1379–1389.
8. Prevalence of left ventricular diastolic dysfunction in European populations based on cross-validated diagnostic thresholds / M. Kloch-Badelek [et al.] // Cardiovasc. Ultrasound. – 2012 Mar. – Vol. 10. – P. 10.
9. A simple, fast and reproducible echocardiographic approach to grade left ventricular diastolic function / B. M. van Dalen [et al.] // Int. J. Cardiovasc. Imaging. – 2016 May. – Vol. 32, N 5. – P. 743–752.
10. The practice of clinical echocardiography / C. M. Otto. – 5th ed. – Philadelphia, Pennsylvania : Elsevier, 2016. – 1024 p.
11. Жерко, О. М. Клиническая трансторакальная эхокардиография : практ. рук. для врачей / О. М. Жерко. – Минск : Альфа-книга, 2016. – 832 с.

12. Жерко, О. М. Глобальное ремоделирование сердца при диастолической дисфункции левого желудочка / О. М. Жерко, Н. П. Олиферко // Кардиология в Беларуси. – 2019. – Т. 11, № 4. – С. 603–613.
13. Жерко, О. М. Ультразвуковая диагностика повышенного в покое давления наполнения левого желудочка / О. М. Жерко // Здравоохранение. – 2019. – № 11. – С. 5–10.
14. Сердечная недостаточность / под общ. ред. Ю. П. Островского. – Минск : Беларус. навука, 2016. – 503 с.
15. An integrative translational approach to study heart failure with preserved ejection fraction: a position paper from the Working Group on Myocardial Function of the European Society of Cardiology / A. P. Lourenço [et al.] // Eur. J. Heart Fail. – 2018 Feb. – Vol. 20, N 2. – P. 216–227.

Поступила 11.02.2020 г.

Принята в печать 01.06.2020 г.

References

1. Nagueh SF, Smiseth OA, Appleton CP, Byrd BF, Dokainish H, Edvardsen T, et al. Recommendations for the Evaluation of Left Ventricular Diastolic Function by Echocardiography: An Update from the American Society of Echocardiography and the European Association of Cardiovascular Imaging. *J Am Soc Echocardiogr.* 2016 Apr;29(4):277-314. doi: 10.1016/j.echo.2016.01.011
2. Ponikowski P, Voors AA, Anker SD, Bueno H, Cleland JGF, Coats AJS, et al. 2016 ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure: The Task Force for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure of the European Society of Cardiology (ESC). Developed with the special contribution of the Heart Failure Association (HFA) of the ESC. *Europ Heart J.* 2016 Jul;37(27):2129-200. doi: 10.1093/eurheartj/ehw128
3. Ovchinnikov AG, Ageev FT. Ultrasound examination to assess diastolic pressure in the left ventricle. *Serdech Nedostatochnost'.* 2009;10(4):221-36. (In Russ.)
4. Zherko OM. Left ventricular filling pressure as a hemodynamic mechanism of the progression of chronic heart failure. *Zdravookhranenie.* 2019;(10):5-9. (In Russ.)
5. Gharacholou SM, Scott CG, Takahashi PY, Nkomo VT, McCully RB, Fine NM, et al. Left Ventricular Diastolic Function and Long-Term Outcomes in Patients With Normal Exercise Echocardiographic Findings. *Am J Cardiol.* 2013 Jul;112(2):200-7. doi: 10.1016/j.amjcard.2013.03.009
6. Knuuti J, Wijns W, Saraste A, Capodanno D, Barbato E, Funck-Brentano C, et al. 2019 ESC Guidelines for the diagnosis and management of chronic coronary syndromes. *Eur Heart J.* 2020 Jan;41(3):407-477. doi: 10.1093/eurheartj/ehz425
7. Zhang Y, Bauersachs J, Langer HF. Immune mechanisms in heart failure. *Eur J Heart Fail.* 2017 Nov;19(11):1379-1389. doi: 10.1002/ejhf.942
8. Kloch-Badelek M, Kuznetsova T, Sakiewicz W, Tikhonoff V, Ryabikov A, González A, et al. Prevalence of left ventricular diastolic dysfunction in European populations based on cross-validated diagnostic thresholds. *Cardiovasc Ultrasound.* 2012 Mar;10:10. doi: 10.1186/1476-7120-10-10
9. van Dalen BM, Strachinaru M, van der Swaluw J, Geleijnse ML. A simple, fast and reproducible echocardiographic approach to grade left ventricular diastolic function. *Int J Cardiovasc Imaging.* 2016 May;32(5):743-52. doi: 10.1007/s10554-015-0832-6
10. Otto CM. The practice of clinical echocardiography. 5th ed. Philadelphia, Pennsylvania: Elsevier; 2016. 1024 p.
11. Жерко ОМ. Клиническая трансторакальная эхокардиография: практ рук для врачей. Минск, РБ: Альфакнига Zherko OM. Clinical transthoracic echocardiography: prakt ruk dlia vrachei. Minsk, RB: Al'fakniga; 2016. 832 p. (In Russ.)
12. Zherko OM, Oliferko NP. Global remodeling of the heart with diastolic dysfunction of the left ventricle. *Kardiologiya Belarusi.* 2019;11(4):603-13. (In Russ.)
13. Zherko OM. Ultrasound diagnosis of elevated resting filling pressure of the left ventricle. *Zdravookhranenie.* 2019;(11):5-10. (In Russ.)
14. Ostrovskiy YuP, red. Heart failure. Minsk, RB: Belarus navuka; 2016. 503 p. (In Russ.)
15. Lourenço AP, Leite-Moreira AF, Balligand JL, Bauersachs J, Dawson D, de Boer RA5, et al. An integrative translational approach to study heart failure with preserved ejection fraction: a position paper from the Working Group on Myocardial Function of the European Society of Cardiology. *Eur J Heart Fail.* 2018 Feb;20(2):216-227. doi: 10.1002/ejhf.1059

Submitted 11.02.2020

Accepted 01.06.2020

Сведения об авторах:

Жерко О.М. – к.м.н., доцент, заведующая кафедрой ультразвуковой диагностики, Белорусская медицинская академия последипломного образования.

Information about authors:

Zherko O.M. – Candidate of Medical Sciences, associate professor, head of the Chair of Ultrasound Diagnosis, Belarusian Medical Academy of Post-Graduate Education.

Адрес для корреспонденции: Республика Беларусь, 220013, г. Минск, ул. П. Бровки, д.3, корп. 3, Белорусская медицинская академия последипломного образования, кафедра ультразвуковой диагностики. E-mail: zherco@mail.ru – Жерко Ольга Михайловна.

Correspondence address: Republic of Belarus, 220013, Minsk, 3-3 P. Brovki str., Belarusian Medical Academy of Post-Graduate Education, Chair of Ultrasound Diagnosis. E-mail: zherco@mail.ru – Olga M. Zherko.

ОСОБЕННОСТИ СУБПОПУЛЯЦИЙ ДЕНДРИТНЫХ КЛЕТОК У ПАЦИЕНТОВ ПРИ ТРАНСПЛАНТАЦИИ ПОЧКИ

ЗЫБЛЕВА С.В., ЗЫБЛЕВ С.Л.

Республиканский научно-практический центр радиационной медицины и экологии человека, г. Гомель, Республика Беларусь

Вестник ВГМУ. – 2020. – Том 19, №3. – С. 96-105.

THE PECULIARITIES OF DENDRITIC CELLS SUBPOPULATIONS IN PATIENTS ON KIDNEY TRANSPLANTATION

ZYBLEVA S.V., ZYBLEV S.L.

Republican Research Center for Radiation Medicine and Human Ecology, Gomel, Republic of Belarus

Vestnik VGMU. 2020;19(3):96-105.

Резюме.

Цель – изучить динамику субпопуляций дендритных клеток у пациентов после трансплантации почки в раннем послеоперационном периоде.

Материал и методы. Обследовано 197 пациентов, которым была выполнена трансплантация почки. Все пациенты разделены на 3 группы. Первая группа (ПФТ, n=101) – пациенты с удовлетворительной первичной функцией трансплантата без эпизодов отторжения, вторая группа (ДФТ, n=82) – пациенты с первичной дисфункцией трансплантата без эпизодов отторжения, третья группа (ОПТ, n=14) – пациенты с первичной дисфункцией трансплантата и отторжением, верифицированным на основании биопсии почечного трансплантата. В качестве группы сравнения (ГС) участвовало 90 здоровых добровольцев. Функция трансплантата оценивалась по следующим критериям: первичная функция трансплантата характеризовалась при уровне креатинина на 7 сутки после операции ниже 300 мкмоль/л; при концентрации креатинина, равной или превышающей 300 мкмоль/л, и(или) при необходимости в проведении диализа на первой неделе после трансплантации состояние классифицировалось как дисфункция почечного трансплантата. Иммунологическое обследование пациентов проводилось перед операцией, на 1-е, 3-и и 7-е сутки после операции. Определяли уровень $LIN\text{-}HLA\text{-}DR^+CD11c^+CD123^-$ (миелоидные DC) и $LIN\text{-}HLA\text{-}DR^+CD11c^+CD123^+$ (плазмацитоидные DC).

Результаты. Отмечен рост абсолютного и относительного показателя общего количества DC, а также абсолютных значений количества миелоидных и плазмацитоидных DC в группе реципиентов с ПФТ с третьих по седьмые сутки посттрансплантационного периода, в то время как в группе ОПТ наблюдалось снижение уровня данных клеток с третьих суток.

Заключение. Оценка уровня миелоидных и плазмацитоидных дендритных клеток у реципиентов почечного трансплантата расширяет возможности лабораторного мониторинга в раннем посттрансплантационном периоде с целью своевременной корректировки проводимой иммуносупрессивной терапии.

Ключевые слова: $LIN\text{-}HLA\text{-}DR^+CD11c^+CD123^-$, $LIN\text{-}HLA\text{-}DR^+CD11c^+CD123^+$, трансплантация почки.

Abstract.

Objectives. To study the dynamics of dendritic cells subpopulations in patients after kidney transplantation in the early postoperative period.

Material and methods. We have examined 197 patients who underwent kidney transplantation. All patients were divided into 3 groups. The first group (PGF, n=101) consisted of patients with satisfactory primary graft function without rejection episodes, the second group (PGD, n=82) included patients with primary graft dysfunction without rejection episodes, the third group (GR, n=14) was composed of patients with primary graft dysfunction and graft rejection verified on the basis of renal transplant biopsy. A comparison group (CG) consisted of 90 healthy volunteers. Graft function was assessed according to the following criteria: primary graft function was characterized by creatinine level below 300

$\mu\text{mol/l}$ on the 7th day after surgery; when creatinine concentration was equal to or higher than $300 \mu\text{mol/l}$ and (or), in case of need for dialysis during the first week after transplantation, the state was classified as kidney graft dysfunction. Immunological examination of patients was carried out before the transplantation, and on the 1st, the 3rd and the 7th days after the transplantation. The levels of $\text{LIN}^+\text{HLA-DR}^+\text{CD11c}^+\text{CD123}^-$ (myeloid DC) and $\text{LIN}^+\text{HLA-DR}^+\text{CD11c}^+\text{CD123}^+$ (plasmacytoid DC) were determined.

Results. We have noted an increase in the absolute and relative indicator of the total number of DC, as well as absolute values of the number of myeloid and plasmacytoid DCs in the group of recipients with PGF from the third to the seventh day of the post-transplantation period. While in the GR group, a decrease in the level of these cells beginning with the third post-transplantation day was observed.

Conclusions. The assessment of the myeloid and plasmacytoid dendritic cells level in kidney transplant recipients widens the possibilities of laboratory monitoring in the early post-transplantation period with the purpose of timely adjustment of the provided immunosuppressive therapy.

Key words: $\text{LIN}^+\text{HLA-DR}^+\text{CD11c}^+\text{CD123}^-$; $\text{LIN}^+\text{HLA-DR}^+\text{CD11c}^+\text{CD123}^+$, kidney transplantation.

Дендритные клетки (DC) – это высокоэффективные антигенпрезентирующие клетки, представляющие гетерогенную клеточную популяцию. С учетом поверхностных маркеров и основных функций различают субпопуляции миелоидных DC (mDC) с поверхностным фенотипом $\text{CD11c}^+\text{CD123}^{\text{low}}$ и плазмацитоидных DC (pDC) с фенотипом $\text{CD11c}^+\text{CD123}^{\text{high}}$ [1].

Миелоидные DC имеют мощный потенциал для захвата и презентации антигенов, что позволяет им эффективно стимулировать Т-клетки. Плазмацитоидные DC отличаются низкой экспрессией молекул главного комплекса гистовместимости II класса (по сравнению с mDC), слабой способностью к стимуляции Т-лимфоцитов, однако обладают свойством продуцировать большое количество $\text{IFN}\alpha$ и $\text{IFN}\beta$ при воздействии на них вирусными компонентами [2, 3].

В контексте трансплантации органов, роль DC изучалась рядом авторов и те DC, что способствуют приживлению трансплантата, рассматриваются как толерогенные, а те, что индуцируют отторжение трансплантата – как иммуногенные [4, 5].

В данной статье представлены результаты изучения динамики $\text{LIN}^+\text{HLA-DR}^+\text{CD11c}^+\text{CD123}^-$ (миелоидные DC) (mDC) и $\text{LIN}^+\text{HLA-DR}^+\text{CD11c}^+\text{CD123}^+$ (плазмацитоидные DC) (pDC) при различных вариантах течения посттрансплантационного периода.

Материал и методы

Обследовано 197 пациентов, которым была выполнена трансплантация почки ГУ «Республиканский научно-практический центр радиационной медицины и экологии человека» (Гомель).

(ГУ «РНПЦ РМиЭЧ», г. Гомель). Клиническое исследование проведено в соответствии с Хельсинкской декларацией 1975 года и одобрено комитетом по этике ГУ «РНПЦ РМиЭЧ» (протокол № 5 от 02.12.2013). Все пациенты разделены на 3 группы. Первая группа (ПФТ, $n=101$) – пациенты с удовлетворительной первичной функцией трансплантата без эпизодов отторжения, вторая группа (ДФТ, $n=82$) – пациенты с первичной дисфункцией трансплантата без эпизодов отторжения, третья группа (ОПТ, $n=14$) – пациенты с первичной дисфункцией трансплантата и отторжением, верифицированным на основании биопсии почечного трансплантата. В качестве группы сравнения (ГС) участвовало 90 здоровых добровольцев.

Функция трансплантата оценивалась по следующим критериям: первичная функция трансплантата характеризовалась при уровне креатинина на 7 сутки после операции ниже $300 \mu\text{mol/l}$; при концентрации креатинина равной или превышающей $300 \mu\text{mol/l}$, и(или) при необходимости в проведении диализа на первой неделе после трансплантации состояние классифицировалось как дисфункция почечного трансплантата [6].

В исследовании участвовало 122 (61,9%) мужчин и 75 (38,1%) женщин. Средний возраст равнялся $45,9 \pm 0,9$ года [95% ДИ 44,1; 47,57]. Время холодовой ишемии составило $12,38 \pm 0,3$ часа [95% ДИ 11,8; 13,0]. Отрицательный результат прямой перекрестной пробы (cross-match) был в 100% случаев. Всем пациентам индукционная иммуносупрессивная терапия проводилась моноклональными анти-CD25-антителами двукратно по 20 мг перед операцией и на 4-е сутки после

трансплантации. Дальнейшая иммуносупрессия состояла из кортикостероидов и ингибиторов кальциневрина в сочетании с микофенолатом или азатиоприном.

Иммунологическое обследование пациентов проводилось перед операцией, на 1-е, 3-и и 7-е сутки после операции. Определяли уровень дендритных клеток $LIN^+HLA-DR^+$ с фенотипом $LIN^+HLA-DR^+CD11c^+CD123^-$ (миелоидные DC) (mDC) и $LIN^+HLA-DR^+CD11c^+CD123^+$ (плазмацитоидные DC) (pDC).

Определение относительного и абсолютного количества дендритных клеток

Кровь брали из локтевой вены, в качестве антикоагулянта использовали ЭДТА. Применяли антитела: LIN PE, CD11c PC5, CD123 PC7, Anti-HLADR APC-AF750 (Beckman Coulter, США), согласно инструкции фирмы-производителя. Инкубировали 15 мин в темноте. Для лизиса эритроцитов использовали OptiLyseV. Пробы анализировали на проточном цитофлуориметре FACS Canto II (BD, США). Популяцию дендритных клеток определяли как $LIN^+Anti-HLA-DR^{+bright}$ клетки. В зависимости от экспрессии CD11c или CD123 основной пул дендритных клеток подразделялся на плазмацитоидные ($LIN^+Anti-HLADR^{+bright}CD123^+$) и миелоидные ($LIN^+Anti-HLA-DR^{+bright}CD11c^+$) дендритные клетки. Накапливали до 100 000 событий в регионе ядродержащих клеток. Абсолютное значение двух типов дендритных клеток получали путем математического вычисления.

Для статистической обработки результатов исследования использовался метод числовых характеристик (Mann-Whitney U Test, Wilcoxon Matched Pairs Test) с оценкой распределения переменных. Описательная статистика количественных признаков представлены: среднее (доверительный интервал) – M [Confidence -95%; +95%], медиана (интерквартильный размах) – Me [Q25; Q75]. Уровень статистической значимости полученных результатов принят как равным или менее 0,05.

Результаты и обсуждение

Результаты исследования общего количества DC в периферической крови пациентов изучаемых групп представлены в таблице 1, рисунках 1 и 2.

Перед операцией в группе ПФТ относительный уровень DC значительно превышал показате-

тель GC (Mann-Whitney U Test $p_{0ПФТ/ГСотн} = 0,011$). В группах ДФТ и ОПТ уровень DC до операции значимо не отличался с показателем GC (Mann-Whitney U Test $p_{0ДФТ/ГСотн} = 0,980$ и $p_{0ОПТ/ГСотн} = 0,163$). Абсолютное количество DC перед операцией по сравнению с показателями GC было значимо выше в группах ПФТ и ДФТ, в то время как в группе ОПТ значимой разницы с уровнем GC выявлено не было (Mann-Whitney U Test $p_{0ПФТ/ГСабс} = 0,002$, $p_{0ДФТ/ГСабс} = 0,022$, $p_{0ОПТ/ГСабс} = 0,227$).

С первых суток послеоперационного периода наблюдалось снижение относительного количества DC во всех группах, при этом значимое снижение было в группах ПФТ и ДФТ (Wilcoxon Matched Pairs Test $p_{0,1ПФТ} < 0,0001$, $p_{0,1ДФТ} < 0,0001$, $p_{0,1ОПТ} = 0,173$).

На третьи сутки относительный уровень DC значимо снизился в группах ПФТ и ДФТ (Wilcoxon Matched Pairs Test $p_{1,3ПФТ} < 0,0001$, $p_{1,3ДФТ} = 0,016$, $p_{1,3ОПТ} = 0,273$). Но в группе ОПТ, напротив, выявлен рост количества DC со значимым превышением уровня ПФТ (Mann-Whitney U Test $p = 0,002$).

На седьмые послеоперационные сутки в группе ПФТ наблюдался значимый рост уровня DC, но в группе ДФТ изменения уровня DC не было (Wilcoxon Matched Pairs Test $p_{3,7ПФТ} < 0,0001$, $p_{3,7ДФТ} = 0,148$). А в группе ОПТ, напротив, выявлено значимое снижение показателя DC по сравнению со значением в группах ПФТ (табл. 1, рис. 1).

Изменения абсолютного уровня DC имели ту же направленность, что и относительные значения (рис. 2).

Абсолютное значение DC в группах ОПТ и ДФТ снижалось в течение всего периода наблюдения. Однако наименьшее значение выявлено в группе ПФТ на третьи сутки. Следует отметить, что в группе ОПТ на седьмые сутки послеоперационного периода уровень DC был значимо ниже по сравнению с показателями других групп (табл. 1).

Что касается субпопуляций дендритных клеток на предтрансплантационном этапе, то у пациентов было выявлено значимое преобладание абсолютного содержания субпопуляции $LIN^+HLA-DR^+CD11c^+CD123^-$ mDC в группе с ПФТ относительно группы ДФТ. При сравнении предоперационного уровня $LIN^+HLA-DR^+CD11c^+CD123^-$ mDC в группах ПФТ и ДФТ с группой ОПТ как относительного, так и абсолютного количества значимого различия выявлено не было (табл. 2).

На первые посттрансплантационные сутки был отмечен значимый рост относительного ко-

Таблица 1 – Показатели дендритных клеток пациентов изучаемых групп (Me [Q₂₅; Q₇₅])

Сутки	Ед. изм.	Группа сравнения	ПФТ	ДФТ	ОПТ	p, Mann-Whitney U Test
0	отн х %	0,80% 0,50;1,10 0,05×10 ⁹ кл/л 0,04;0,06	1,24* 0,66;2,11	1,12 0,70;1,70	1,13 0,66;1,70	p _{ПФТ/ДФТ} =0,129 p _{ПФТ/ОПТ} =0,498 p _{ДФТ/ОПТ} =0,934
	10 ⁹ кл/л		0,108* 0,052;0,152	0,069* 0,048;0,104	0,076 0,046;0,093	p _{ПФТ/ДФТ} =0,008 p _{ПФТ/ОПТ} =0,123 p _{ДФТ/ОПТ} =0,992
1	отн х %		0,21* 0,21;0,23	0,33* 0,13;0,67	0,47 0,21;1,30	p _{ПФТ/ДФТ} =0,004 p _{ПФТ/ОПТ} =0,006 p _{ДФТ/ОПТ} =0,203
	10 ⁹ кл/л		0,022* 0,017;0,03	0,037 0,015;0,069	0,054 0,018;0,106	p _{ПФТ/ДФТ} =0,010 p _{ПФТ/ОПТ} =0,011 p _{ДФТ/ОПТ} =0,234
3	отн х %		0,16* 0,13;0,20	0,29* 0,10;0,54	0,45* 0,15;0,67	p _{ПФТ/ДФТ} <0,0001 p _{ПФТ/ОПТ} =0,030 p _{ДФТ/ОПТ} =0,510
	10 ⁹ кл/л		0,016* 0,012;0,019	0,029* 0,017;0,042	0,04 0,017;0,070	p _{ПФТ/ДФТ} <0,0001 p _{ПФТ/ОПТ} =0,020 p _{ДФТ/ОПТ} =0,445
7	отн х %		0,25* 0,21;0,30	0,29* 0,20;0,35	0,21* 0,16;0,29	p _{ПФТ/ДФТ} =0,012 p _{ПФТ/ОПТ} =0,102 p _{ДФТ/ОПТ} =0,032
	10 ⁹ кл/л		0,020* 0,016;0,028	0,020* 0,013;0,033	0,011* 0,009;0,023	p _{ПФТ/ДФТ} =0,549 p _{ПФТ/ОПТ} =0,004 p _{ДФТ/ОПТ} =0,029

Примечание: * – p<0,05 при сравнении с группой сравнения.

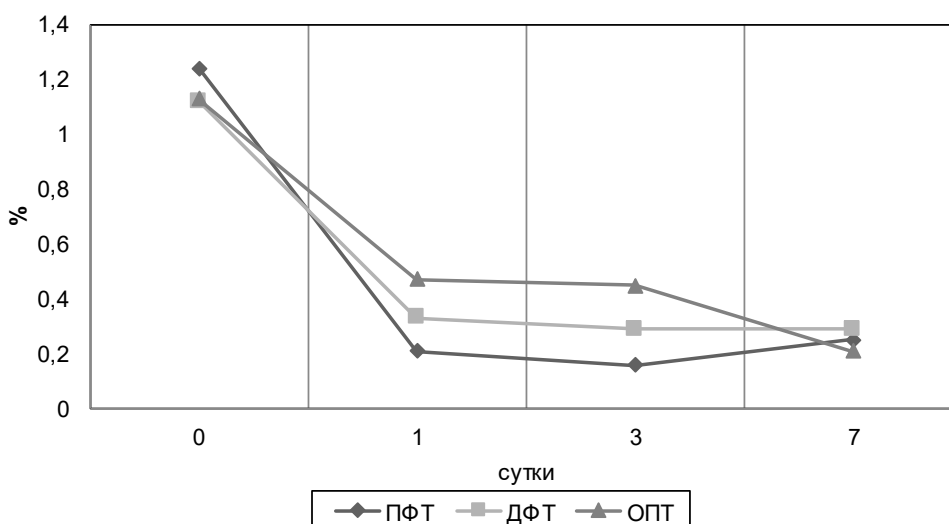


Рисунок 1 – Динамика относительного содержания дендритных клеток в посттрансплантационном периоде.

личества mDC в группе ДФТ и ОПТ (Wilcoxon Matched Pairs Test p_{ДФТ0/1отн}=0,001 и p_{ОПТ0/1отн}=0,018) (рис. 3). Следует отметить, что уровень LIN⁻HLA-DR⁺CD11c⁺CD123⁻ mDC был значимо выше в

группах ОПТ и ДФТ по сравнению с показателем группы ПФТ на первые и третьи сутки. Однако существенной динамики количества mDC не отмечалось до третьих суток наблюдения (Wilcoxon

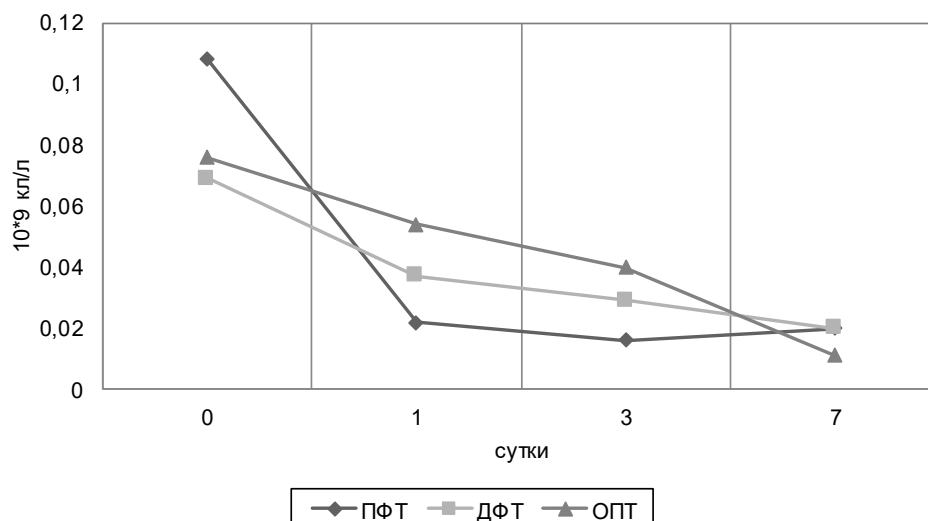


Рисунок 2 – Динамика абсолютного содержания дендритных клеток в посттрансплантационном периоде.

Таблица 2 – Показатели LIN⁻HLA-DR⁺CD11c⁺CD123⁻ mDC пациентов изучаемых групп (Me [Q₂₅; Q₇₅])

Сутки	Ед. изм.	Группа сравнения	ПФТ	ДФТ	ОПТ	p, Mann-Whitney U Test
0	%		93,54* 92,60;94,34	93,50* 89,20;96,98	92,42* 81,43;94,41	$p_{\text{ПФТ/ДФТ}}=0,331$ $p_{\text{ПФТ/ОПТ}}=0,309$ $p_{\text{ДФТ/ОПТ}}=0,355$
	10 ⁹ кл/л		0,101* 0,05;0,143	0,068* 0,042;0,094	0,070 0,042;0,081	$p_{\text{ПФТ/ДФТ}}=0,006$ $p_{\text{ПФТ/ОПТ}}=0,084$ $p_{\text{ДФТ/ОПТ}}=0,846$
1	%	80,00% 70,80;87,80	93,48* 92,56;94,16	96,18* 92,22;98,68	97,80* 94,38;99,00	$p_{\text{ПФТ/ДФТ}}<0,0001$ $p_{\text{ПФТ/ОПТ}}=0,017$ $p_{\text{ДФТ/ОПТ}}=0,358$
	10 ⁹ кл/л		0,02* 0,016;0,028	0,041 0,022;0,074	0,069 0,018;0,101	$p_{\text{ПФТ/ДФТ}}<0,0001$ $p_{\text{ПФТ/ОПТ}}=0,042$ $p_{\text{ДФТ/ОПТ}}=0,397$
3	%	0,05×10 ⁹ кл/л 0,04;0,06	93,63* 92,79;94,24	95,95* 93,46;97,20	97,51* 94,70;99,31	$p_{\text{ПФТ/ДФТ}}<0,0001$ $p_{\text{ПФТ/ОПТ}}<0,0001$ $p_{\text{ДФТ/ОПТ}}=0,164$
	10 ⁹ кл/л		0,015* 0,011;0,018	0,028* 0,010;0,041	0,040 0,016;0,073	$p_{\text{ПФТ/ДФТ}}<0,0001$ $p_{\text{ПФТ/ОПТ}}=0,009$ $p_{\text{ДФТ/ОПТ}}=0,223$
7	%		91,00* 90,09;91,69	91,07* 85,39;95,94	92,90* 86,20;97,50	$p_{\text{ПФТ/ДФТ}}=0,801$ $p_{\text{ПФТ/ОПТ}}=0,190$ $p_{\text{ДФТ/ОПТ}}=0,729$
	10 ⁹ кл/л		0,022* 0,014;0,026	0,019* 0,012;0,030	0,011* 0,009;0,023	$p_{\text{ПФТ/ДФТ}}=0,330$ $p_{\text{ПФТ/ОПТ}}=0,010$ $p_{\text{ДФТ/ОПТ}}=0,108$

Примечание: * – p<0,05 при сравнении с группой сравнения.

Matched Pairs Test $p_{\text{ПФТ1/3отн}}=0,180$, $p_{\text{ДФТ1/3отн}}=0,376$, $p_{\text{ОПТ1/3отн}}=0,285$). Значимое снижение относительного содержания субпопуляции mDC было выявлено с третьих по седьмые посттрансплан-

тационные сутки в группах ПФТ, ДФТ и ОПТ (Wilcoxon Matched Pairs Test $p_{\text{ПФТ3/7отн}}<0,0001$, $p_{\text{ДФТ3/7отн}}<0,0001$, $p_{\text{ОПТ3/7отн}}=0,018$). Было выявлено, что в группе ОПТ на седьмые сутки относитель-

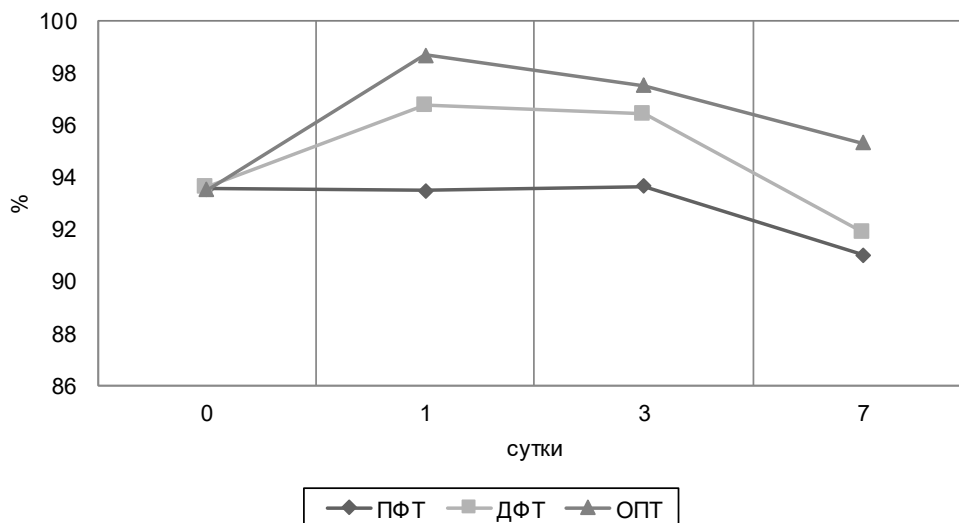


Рисунок 3 – Динамика относительного содержания LIN⁻HLA-DR⁺CD11c⁺CD123⁻ mDC.

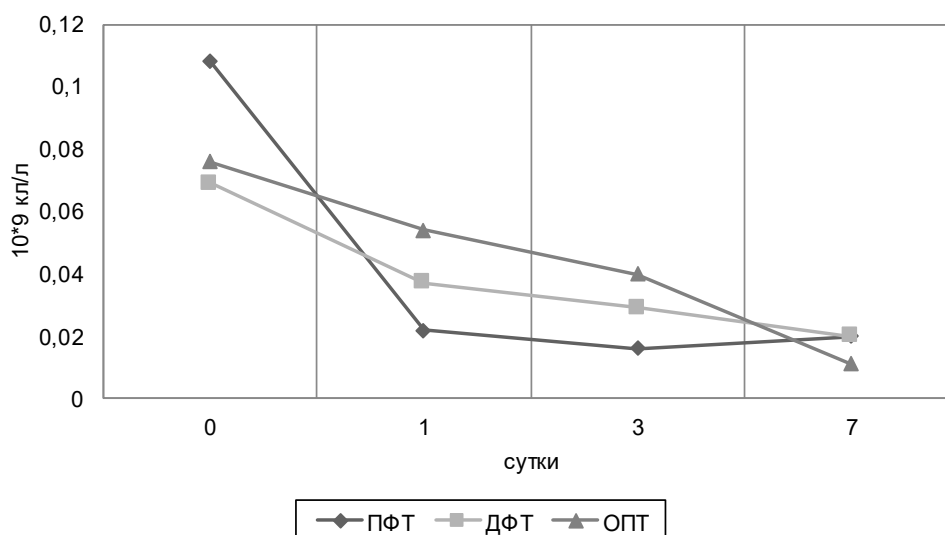


Рисунок 4 – Динамика абсолютного содержания LIN⁻HLA-DR⁺CD11c⁺CD123⁻ mDC.

ный уровень LIN⁻HLA-DR⁺CD11c⁺CD123⁻ mDC был значимо ниже, чем в группе ПФТ и ДФТ (табл. 2).

При сравнении динамики абсолютного содержания миелоидных дендритных клеток было выявлено их значимое снижение в группе ПФТ и ДФТ на первые сутки, в то время как в группе ОПТ значимого снижения не выявлено (Wilcoxon Matched Pairs Test $p_{\text{ПФТ0/1абс}}=0,180$, $p_{\text{ДФТ0/1абс}}=0,633$, $p_{\text{ОПТ0/1абс}}=0,735$). На третьи сутки в группе ПФТ выявлен минимальный уровень mDC, значимо меньший по сравнению с показателями групп ОПТ и ДФТ, с последующим ростом к седьмым суткам. В группе ОПТ количество mDC существенно снижалось, и к седьмым суткам наблю-

дения было значимо ниже по сравнению с показателями групп ПФТ и ДФТ (рис. 4).

Относительный и абсолютный уровень субпопуляции плазматоидных дендритных клеток LIN⁻HLA-DR⁺CD11c⁺CD123⁺ pDC на дотрансплантационном этапе во всех изучаемых группах был ниже, чем в группе сравнения (табл. 3).

По результатам исследования выявлено, что в группе ПФТ к первым суткам значимой динамики относительного количества субпопуляции pDC выявлено не было, в то время как в группе ДФТ и ОПТ было отмечено значимое снижение данной субпопуляции клеток (Wilcoxon Matched Pairs Test $p_{\text{ПФТ0/1отн}}=0,057$, $p_{\text{ДФТ0/1отн}}=0,003$, $p_{\text{ОПТ0/1отн}}=0,018$) (рис. 5).

Таблица 3 – Показатели LIN-HLA-DR⁺CD11c⁺CD123⁺ pDC пациентов изучаемых групп (Me [Q₂₅; Q₇₅])

Сутки	Ед. изм.	Группа сравнения	ПФТ	ДФТ	ОПТ	p, Mann-Whitney U Test
0	%	20,00% 12,20;29,20 0,01×10 ⁹ кл/л 0,007;0,012	6,46* 5,66;7,40	6,50* 3,02;10,20	7,58* 5,59;18,57	$p_{\text{ПФТ/ДФТ}}=0,365$ $p_{\text{ПФТ/ОПТ}}=0,309$ $p_{\text{ДФТ/ОПТ}}=0,336$
	10 ⁹ кл/л		0,007* 0,003;0,009	0,004* 0,002;0,007	0,004 0,003;0,012	$p_{\text{ПФТ/ДФТ}}=0,030$ $p_{\text{ПФТ/ОПТ}}=0,760$ $p_{\text{ДФТ/ОПТ}}=0,381$
1	%		6,53* 5,84;7,44	4,18* 1,32;7,78	2,20* 1,00;5,62	$p_{\text{ПФТ/ДФТ}}<0,0001$ $p_{\text{ПФТ/ОПТ}}=0,017$ $p_{\text{ДФТ/ОПТ}}=0,306$
	10 ⁹ кл/л		0,001* 0,001;0,002	0,001* 0,001;0,002	0,001* 0,000;0,005	$p_{\text{ПФТ/ДФТ}}=0,914$ $p_{\text{ПФТ/ОПТ}}=0,262$ $p_{\text{ДФТ/ОПТ}}=0,556$
3	%		6,37* 5,76;7,21	4,05* 2,80;6,54	2,49* 0,69;5,30	$p_{\text{ПФТ/ДФТ}}<0,0001$ $p_{\text{ПФТ/ОПТ}}<0,0001$ $p_{\text{ДФТ/ОПТ}}=0,164$
	10 ⁹ кл/л		0,001* 0,001;0,0012	0,001* 0,000;0,002	0,002* 0,000;0,002	$p_{\text{ПФТ/ДФТ}}=0,996$ $p_{\text{ПФТ/ОПТ}}=0,588$ $p_{\text{ДФТ/ОПТ}}=0,895$
7	%		9,00* 8,31;9,91	8,93* 4,05;14,61	7,10* 2,50;13,80	$p_{\text{ПФТ/ДФТ}}=0,801$ $p_{\text{ПФТ/ОПТ}}=0,190$ $p_{\text{ДФТ/ОПТ}}=0,729$
	10 ⁹ кл/л		0,002* 0,001;0,002	0,001* 0,001;0,003	0,001* 0,001;0,002	$p_{\text{ПФТ/ДФТ}}=0,065$ $p_{\text{ПФТ/ОПТ}}=0,001$ $p_{\text{ДФТ/ОПТ}}=0,139$

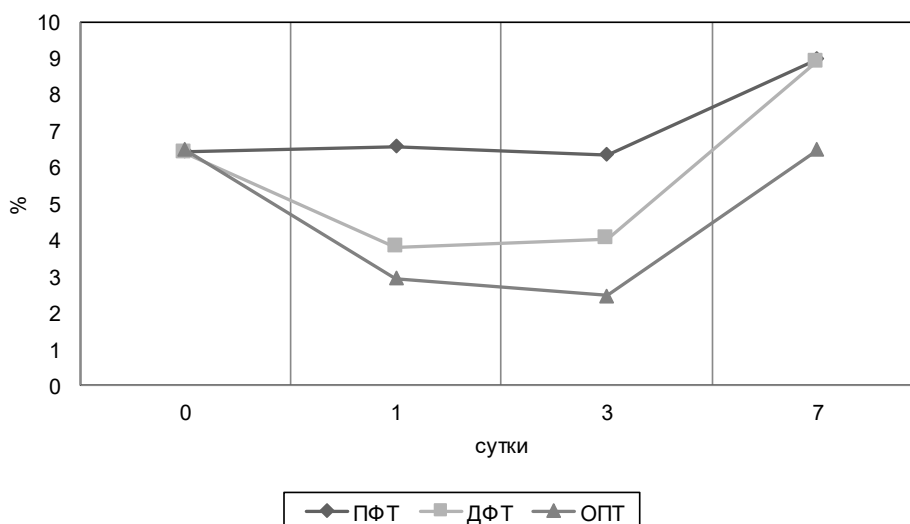


Рисунок 5 – Динамика относительного количества LIN-HLA-DR⁺CD11c⁺CD123⁺ pDC.

Стабильное количество pDC сохранялось в группах ПФТ и ДФТ до третьих суток, а в группе ОПТ наблюдалось значимое снижение (Wilcoxon Matched Pairs Test $p_{\text{ПФТ1/3отн}}=0,180$, $p_{\text{ДФТ1/3отн}}=0,309$, $p_{\text{ОПТ1/3отн}}=0,018$). Однако к седьмым суткам выяв-

лен значимый рост относительного количества pDC во всех в группах (Wilcoxon Matched Pairs Test $p_{\text{ПФТ3/7отн}}<0,0001$, $p_{\text{ДФТ3/7отн}}<0,0001$, $p_{\text{ОПТ3/7отн}}=0,018$). Кроме того, рост абсолютного количества pDC отмечен в группах ПФТ и ДФТ, уровень которого

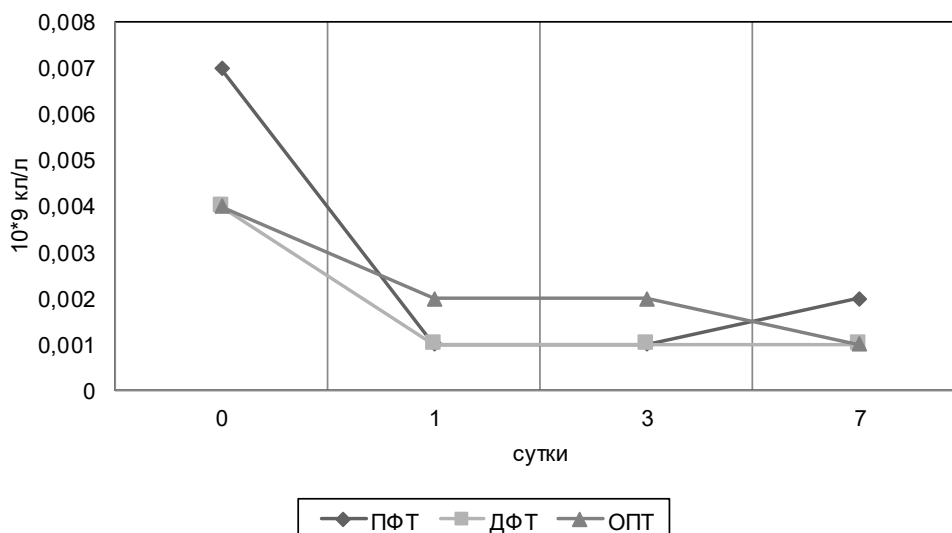


Рисунок 6 – Динамика абсолютного количества LIN⁻HLA-DR⁺CD11c⁻CD123⁺ pDC.

был значимо выше в группе ПФТ уровня группы ОПТ (Wilcoxon Matched Pairs Test $p_{\text{ПФТ3/7абс}} < 0,0001$, $p_{\text{ДФТ3/7абс}} < 0,0001$, $p_{\text{ОПТ3/7абс}} = 0,767$) (рис. 6).

Как и на первые сутки, в течение всего периода наблюдения относительное и абсолютное количество LIN⁻HLA-DR⁺CD11c⁻CD123⁺ pDC во всех группах было значимо ниже, чем в группе сравнения (табл. 3).

Как известно, дендритные клетки (DC) являются важными медиаторами врожденного и адаптивного иммунного ответа. До недавнего времени изучение этих клеток осложнялось их сходством с другими гемопоэтическими линиями, в частности моноцитами и макрофагами. Однако недавние открытия в ключевых областях биологии DC способствовали формированию новых концепций в изучении роли данных клеток в трансплантационной иммунологии [7].

Активированные миелоидные дендритные клетки (mDC) в основном участвуют в стимуляции донорных-специфических Т-лимфоцитов, в то время как плазмоцитоидные дендритные клетки (pDC) были описаны в роли индукторов толерантности при аллотрансплантации солидных органов [8, 9]. Тем не менее, по некоторым данным взаимодействие Т-клеток и pDC в селезенке способны вызвать отторжение аллотрансплантата [10]. Однако зрелые mDC являются мощными стимуляторами Т-хелперов 1-го типа и Т-цитотоксических лимфоцитов, и, следовательно, считаются доминирующими клетками в развитии острого отторжения трансплантата [11].

В исследованиях Zuidwijk K. и соавт. впер-

вые было показано, что острое отторжение почечного аллотрансплантата ассоциировано с притоком в донорский орган обеих субпопуляций дендритных клеток, как mDC, так и pDC, который связан с локальным повреждением трансплантата. Наличие в почках зрелых DC в непосредственной близости с Т-клетками во время острого отторжения предполагает локальную активацию Т-клеток в пределах трансплантата [12].

Нами была выявлена следующая закономерность. Отмечен рост абсолютного и относительного показателя общего количества DC в группе реципиентов с ПФТ с третьих по седьмые сутки посттрансплантационного периода. В группе ДФТ значимого изменения уровня DC выявлено не было. В свою очередь, в группе ОПТ наблюдалось снижение уровня данных клеток с третьих суток. Такая же динамика наблюдалась с абсолютными показателями обеих субпопуляций DC. С учетом схожих клинико-лабораторных характеристик пациентов с дисфункцией почечного трансплантата возникает необходимость дифференциальной диагностики причин нарушения функции аллографта, что непосредственно влияет на применимую тактику ведения пациентов. К 7-м посттрансплантационным суткам по характеру динамики DC и их субпопуляций в периферической крови можно судить о развивающемся иммунологическом конфликте и ориентировать иммуносупрессивную терапию в сторону усиления.

Таким образом, в результате нашего исследования определена возможность оценки количества LIN⁻HLA-DR⁺CD11c⁺CD123⁻ mDC и

LIN⁺HLA-DR⁺CD11c⁺CD123⁺ pDC у реципиентов почечного трансплантата в течение семи суток после операции в качестве дополнительного иммунологического маркера риска развития отторжения донорского органа. Кроме того, он расширяет наши знания о сложном механизме острого отторжения аллотрансплантата и прогрессирующей потере его функции.

Заключение

Оценка уровня миелоидных и плазмацитоидных дендритных клеток у реципиентов почечного трансплантата расширяет возможности лабораторного мониторинга в раннем посттрансплантационном периоде с целью своевременной корректировки проводимой иммуносупрессивной терапии.

Литература

1. Liu, Y. J. IPC: Professional Type 1 interferon-producing cells and plasmacytoid dendritic cell precursors / Y. J. Liu // *Annu Rev. Immunol.* – 2005. – Vol. 23. – P. 275–306.
2. Characterization of human blood dendritic cell subsets / K. P. MacDonald [et al.] // *Blood.* – 2002 Dec. – Vol. 100, N 13. – P. 4512–4520.
3. Хоченков, Д. А. Биология дендритных клеток / Д. А. Хоченков // *Биол. мембраны.* – 2008. – Т. 25, № 6. – С.

References

1. Liu YJ. IPC: Professional Type 1 interferon-producing cells and plasmacytoid dendritic cell precursors. *Annu Rev Immunol.* 2005;23:275-306. doi: 10.1146/annurev.immunol.23.021704.115633
2. MacDonald KP, Munster DJ, Clark GJ, Dzionek A, Schmitz J, Hart DNJ. Characterization of human blood dendritic cell subsets. *Blood.* 2002 Dec;100(13):4512-20. doi: 10.1182/blood-2001-11-0097
3. Khochenkov DA. Dendritic cell biology. *Biol Membrany.* 2008;25(6):403-19. (In Russ.)
4. Morelli AE, Thomson AW. Tolerogenic dendritic cells and the quest for transplant tolerance. *Nat Rev Immunol.* 2007 Aug;7(8):610-21. doi: 10.1038/nri2132
5. Solari MG, Thomson AW. Human dendritic cells and transplant outcome. *Transplantation.* 2008 Jun;85(11):1513-22. doi: 10.1097/TP.0b013e318173a768
6. Cantaluppi V, Dellepiane S, Tamagnone M, Medica D, Figliolini F, Messina M, et al. Neutrophil Gelatinase Associated Lipocalin Is an Early and Accurate Biomarker of Graft Function and Tissue Regeneration in Kidney Transplantation from Extended Criteria Donors. *PLoS One.* 2015 Jun;10(6):e0129279. doi: 10.1371/journal.

- 403–419.
4. Morelli, A. E. Tolerogenic dendritic cells and the quest for transplant tolerance / A. E. Morelli, A. W. Thomson // *Nat. Rev. Immunol.* – 2007 Aug. – Vol. 7, N 8. – P. 610–621.
5. Solari, M. G. Human dendritic cells and transplant outcome / M. G. Solari, A. W. Thomson // *Transplantation.* – 2008 Jun. – Vol. 85, N 11. – P. 1513–1522.
6. Neutrophil Gelatinase Associated Lipocalin Is an Early and Accurate Biomarker of Graft Function and Tissue Regeneration in Kidney Transplantation from Extended Criteria Donors / V. Cantaluppi [et al.] // *PLoS One.* – 2015 Jun. – Vol. 10, N 6. – e0129279.
7. Re(de)fining the dendritic cell lineage / A. T. Satpathy [et al.] // *Nat. Immunol.* – 2012 Dec. – Vol. 13, N 12. – P. 1145–1154.
8. Colonna, M. Plasmacytoid dendritic cells in immunity / M. Colonna, G. Trinchieri, Y. J. Liu // *Nat. Immunol.* – 2004. – Vol. 5. – P. 1219–1226.
9. Gilliet, M. Human plasmacytoid-derived dendritic cells and the induction of T-regulatory cells / M. Gilliet, Y. J. Liu // *Hum. Immunol.* – 2002 Dec. – Vol. 63, N 12. – P. 1149–1155.
10. Alloantigen-presenting plasmacytoid dendritic cells mediate tolerance to vascularized grafts / J. C. Ochando [et al.] // *Nat. Immunol.* – 2006 Jun. – Vol. 7, N 6. – P. 652–662.
11. Liu, Y. J. Dendritic cell subsets and lineages, and their functions in innate and adaptive immunity / Y. J. Liu // *Cell.* – 2001 Aug. – Vol. 106, N 3. – P. 259–262.
12. Increased influx of myeloid dendritic cells during acute rejection is associated with interstitial fibrosis and tubular atrophy and predicts poor outcome / K. Zuidwijk [et al.] // *Kidney Int.* – 2012 Jan. – Vol. 81, N 1. – P. 64–75.

*Поступила 10.04.2020 г.
Принята в печать 01.06.2020 г.*

- pone.0129279
7. Re(de)fining the dendritic cell lineage / A. T. Satpathy [et al.] // *Nat. Immunol.* – 2012 Dec. – Vol. 13, N 12. – P. 1145–1154.
8. Colonna M, Trinchieri G, Liu YJ. Plasmacytoid dendritic cells in immunity. *Nat Immunol.* 2004;5:1219-26.
9. Gilliet M, Liu YJ. Human plasmacytoid-derived dendritic cells and the induction of T-regulatory cells. *Hum Immunol.* 2002 Dec;63(12):1149-55. doi: 10.1016/s0198-8859(02)00753-x
10. Ochando JC, Homma C, Yang Y, Hidalgo A, Garin A, Tacke F, et al. Alloantigen-presenting plasmacytoid dendritic cells mediate tolerance to vascularized grafts. *Nat Immunol.* 2006 Jun;7(6):652-62. doi: 10.1038/ni1333
11. Liu YJ. Dendritic cell subsets and lineages, and their functions in innate and adaptive immunity. *Cell.* 2001 Aug;106(3):259-62. doi: 10.1016/s0092-8674(01)00456-1
12. Zuidwijk K, de Fijter JW, Mallat MJK, Eikmans M, van Groningen MC, Goemaere NN, et al. Increased influx of myeloid dendritic cells during acute rejection is associated with interstitial fibrosis and tubular atrophy and predicts poor outcome. *Kidney Int.* 2012 Jan;81(1):64-75. doi: 10.1038/ki.2011.289

*Submitted 10.04.2020
Accepted 01.06.2020*

Сведения об авторах:

Зыблева С.В. – к.м.н., ученый секретарь, врач-иммунолог, Республиканский научно-практический центр радиационной медицины и экологии человека,

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3061-5324>;

Зыблев С.Л. – к.м.н., доцент, врач-хирург хирургического отделения (трансплантации, реконструктивной и эндокринной хирургии), Республиканский научно-практический центр радиационной медицины и экологии человека,

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0968-6630>.

Information about authors:

Zybleva S.V. – Candidate of Medical Sciences, academic secretary, immunologist, Republican Research Center for Radiation Medicine and Human Ecology,

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3061-5324>;

Zyblev S.L. – Candidate of Medical Sciences, associate professor, surgeon of the surgical department (transplantation, reconstructive and endocrine surgery), Republican Research Center for Radiation Medicine and Human Ecology,

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0968-6630>.

Адрес для корреспонденции: Республика Беларусь, 246000, г. Гомель, ул. Ильича, 290, Республиканский научно-практический центр радиационной медицины и экологии человека, научный отдел. E-mail: zyb-svetlana@yandex.by – Зыблева Светлана Валерьевна.

Correspondence address: Republic of Belarus, 246000, Gomel, 5 Ilicha str., Republican Research Center for Radiation Medicine and Human Ecology, Scientific Department. E-mail: zyb-svetlana@yandex.by – Svetlana V. Zybleva.

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАСПРЕДЕЛЕНИЯ АЛЛЕЛЕЙ И ПОЛИМОРФИЗМОВ ГЕНОВ ФОЛАТНОГО ЦИКЛА У ДЕТЕЙ С РАССТРОЙСТВАМИ АУТИСТИЧЕСКОГО СПЕКТРА И ЗДОРОВЫХ ДЕТЕЙ г. ГРОДНО И ГРОДНЕНСКОЙ ОБЛАСТИ

БИЗЮКЕВИЧ С.В., КАРПЮК В.А.

Гродненский государственный медицинский университет, г. Гродно, Республика Беларусь

Вестник ВГМУ. – 2020. – Том 19, №3. – С. 106-111.

COMPARATIVE CHARACTERISTICS OF THE DISTRIBUTION OF ALLELES AND POLYMORPHISMS OF THE FOLATE CYCLE GENES IN CHILDREN WITH AUTISM SPECTRUM DISORDERS AND HEALTHY CHILDREN OF GRODNO AND GRODNO REGION

BIZIUKEVICH S.V., KARPIUK V.A.

Grodno State Medical University, Grodno, Republic of Belarus

Vestnik VGMU. 2020;19(3):106-111.

Резюме.

Цель работы – сравнительная характеристика распределения аллелей и полиморфизмов генов фолатного цикла у детей с расстройствами аутистического спектра и здоровых детей г. Гродно и Гродненской области.

Материал и методы. В исследование включено 187 детей в возрасте 2-10 лет. В первую группу (n=102) вошли дети с расстройствами аутистического спектра, во вторую (n=85) – здоровые дети. Выявление мутаций генов фолатного цикла MTHFR C677T, MTHFR A1298C, MTRR A66G, MTR A2756G у здоровых детей и детей с расстройствами аутистического спектра проводили методом молекулярно-генетического анализа, включающего в себя экстракцию ДНК из 5 мл образцов периферической крови с использованием диагностических наборов «SNP-Скрин» и «ДНК-Экстран».

Результаты. Сравнительный анализ распределения частот аллелей генов MTRR A66G ($\chi^2=12,63$; $p=0,001$) и MTHFR C677T ($\chi^2=9,36$; $p=0,0092$) в группе детей с расстройствами аутистического спектра выявил достоверные различия относительно распределения их частот в группе здоровых детей. Отмечается тенденция к увеличению частот встречаемости мутантных аллелей G (53,9%) и T (44,6%) генов MTRR A66G, MTHFR C677T в группе детей с расстройствами аутистического спектра по сравнению с группой здоровых детей – 35,29% и 28,8%.

Заключение. Полученные результаты демонстрируют, что носительство гомозиготных полиморфизмов генов MTHFR C677T и MTRR A66G и их ассоциаций может свидетельствовать о вероятном риске развития расстройств аутистического спектра у детей.

Ключевые слова: расстройства аутистического спектра, полиморфизм, гены фолатного цикла, гомозиготы, аллели гена, иммунитет, дети.

Abstract.

The purpose of this article is a comparative characteristic of the distribution of alleles and polymorphisms of the folate cycle genes in children with autism spectrum disorders and healthy children residing in Grodno and Grodno Region.

Material and methods. The study included 187 children aged 2-10 years. The first group (n = 102) consisted of children with autism spectrum disorders, the second group (n = 85) was composed of healthy children. The detection of mutations of the MTHFR C677T, MTHFR A1298C, MTRR A66G, MTR A2756G folate cycle genes in healthy children and children with autism spectrum disorders was performed using molecular genetic analysis, including DNA extraction from 5 ml of peripheral blood samples using the diagnostic kits «SNP-Screen» and «DNA-Extran».

Results. Comparative analysis of the frequency distribution of alleles of the MTRR A66G ($\chi^2=12.63$; $p=0.001$) and MTHFR C677T ($\chi^2=9.36$; $p=0.0092$) genes in the group of children with autism spectrum disorders revealed significant differences with regard to the distribution of their frequencies in the group of healthy children. There is a tendency towards the increase in the occurrence frequencies of mutant alleles G (53.9%) and T (44.6%) of the genes MTRR A66G, MTHFR C677T in the group of children with autism spectrum disorders compared to the group of healthy children – 35.29% and 28.8%.

Conclusions. The results obtained demonstrate that the presence of homozygous polymorphisms of the MTHFR C677T and MTRR A66G genes and their associations may testify to the risk of the development of autism spectrum disorders in children.

Key words: autism spectrum disorders, polymorphism, folate cycle genes, homozygotes, gene alleles, immunity, children.

Генетическая природа развития расстройств аутистического спектра (РАС) на сегодняшний день не вызывает сомнений. Об этом свидетельствует многочисленное количество публикаций, посвящённых генетическим аспектам этиопатогенеза расстройств аутистического спектра. Существенный вклад в развитие РАС вносят иммунные нарушения, влияющие на нейротрансмиттерные механизмы областей головного мозга, ответственных за формирование социально-коммуникативных способностей [1].

Многими исследователями доказана взаимосвязь полиморфизмов генов фолатного цикла и развития расстройств аутистического спектра.

В исследованиях учёных из Ирана (кафедра биологии Гилянского университета) показано влияние полиморфизма гена MTR A2756G, а именно мутантной гомозиготы G/G на риск развития аутизма [2]. Группой генетиков из Египта (университет Ain Shams), полиморфизм гена MTHFR C677T был определен как генетический фактор риска развития РАС, в то время как полиморфизм гена MTRR A66G, по мнению учёных, снижает риск развития аутизма. Однако полиморфизм гена MTHFR A1298C играет роль дополнительного отягощающего фактора в развитии расстройств аутистического спектра [3].

По имеющимся литературным данным, полиморфизм генов фолатного цикла не является фактором, приводящим к возникновению РАС, а создаёт предрасполагающие условия для протекания каскадных процессов, которые, в свою очередь, способствуют манифестации расстройств аутистического спектра [4, 5]. Украинские учёные установили, что полиморфизм генов фолатного цикла приводит к развитию первичного иммунодефицита у 90% детей с РАС. Основой такого иммунодефицита является аномально малое количество натуральных киллеров (НК) и

натуральных Т-киллерных лимфоцитов (НКТ) [5]. В связи с такой особенностью иммунодефицита дети с РАС имеют повышенную склонность к развитию аутоиммунных осложнений [5]. В своих исследованиях авторы подчёркивают, что повреждение головного мозга при генетическом полиморфизме ферментов фолатного цикла происходит разными путями: в результате развития аутоиммунной реакции к мозговым антигенам с формированием лейкоэнцефалопатии разной степени тяжести [5, 6] или нарушения внутриутробного развития нервной системы с возникновением нейроденегерации, включая склероз отдельных участков головного мозга [5,6].

В Белорусской популяции имеется исследование ($n=482$) по распределению полиморфных вариантов у здоровых людей в гене MTHFR 677: C/C – 41,1%, C/T – 53,5%, T/T – 5,4% [7].

Несмотря на имеющиеся научные исследования, посвящённые влиянию генетического полиморфизма ферментов фолатного цикла на риск развития РАС, в Республике Беларусь исследований, направленных на изучение частоты распределения аллелей и полиморфизмов генов фолатного цикла у детей расстройствами аутистического спектра, не проводилось.

Цель исследования – изучить и сравнить частоты распределения аллелей и полиморфизмов генов фолатного цикла у детей с расстройствами аутистического спектра и здоровых детей г. Гродно и Гродненской области.

Материал и методы

В исследовании участвовали 187 человек. Все обследуемые были разделены на две группы. В первую группу ($n=102$) вошли дети с расстройствами аутистического спектра, проходившие стационарное обследование и лечение в детском от-

делении УЗ «ГОКЦ «Психиатрия-наркология»». Из них мальчики составили 84% (86 человек), девочки – 16% (16 человек). Возраст мальчиков составил $5,4 \pm 1,62$ года, девочек – $5,0 \pm 1,86$ года.

Во вторую группу (n=85) были включены здоровые дети. Из них мальчики – 56% (48 человек), девочки – 44% (37 человек). Средний возраст мальчиков составил $7,2 \pm 2,57$ года, девочек – $6,6 \pm 2,89$ года.

Выборка формировалась методом направленного отбора в соответствии со следующими критериями: письменное информированное согласие родителя или законного представителя пациента на участие в исследовании, наличие диагноза «расстройства аутистического спектра» (F84) в соответствии с исследовательскими диагностическими критериями Международной классификации болезней 10-го пересмотра (для первой группы), женский, мужской пол, возраст 2-10 лет. Критерии исключения составили: сопутствующая острая и хроническая соматическая патология, врождённые пороки и дефекты физического развития, отказ от участия в исследовании.

Выявление мутаций или полиморфизмов генов фолатного цикла MTHFR C677T и A1298C, MTRR A66G, MTR A2756G осуществляли методом полимеразной цепной реакции, включающей в себя экстракцию ДНК из 5 мл образцов периферической крови, с детекцией продукта амплификации в режиме реального времени (амплификатор «Rotor-Gene 6000/Q»). Использовались диагностические наборы «SNP-Скрин» и «ДНК-Экстран»(производство «Синтол», Российская

Федерация), в молекулярно-генетической лаборатории УО «Гродненский государственный медицинский университет».

Статистическую обработку фактического материала выполняли с применением пакета прикладных программ Statistica 10.0. Использовались методы описательной статистики и χ^2 Пирсона. Описание количественных признаков выполнено с помощью средней арифметической и стандартного отклонения. О взаимосвязи полиморфных аллелей генов фолатного цикла с риском развития расстройств аутистического спектра судили по величине отношения шансов (ОШ) с поправкой на доверительный интервал (ДИ) в 95%. Распределение изученных полиморфизмов находятся в соответствии с равновесием Харди-Вайнберга. Различие сравниваемых величин считали статистически значимым при $p < 0,05$.

Исследование проведено в соответствии с принципами клинической биоэтики. Конфликт интересов отсутствует.

Результаты и обсуждение

Полученные результаты распределения полиморфных вариантов генов фолатного цикла в первой и второй групп отражают тенденцию к увеличению доли гомозиготных генотипов: GG (29%) гена MTRR A66G, гомозиготного генотипа TT (22,5%) гена MTHFR C677T, генотипа GG (15,6%) гена MTR A2756G и генотипа CC (11,7%) гена MTHFR A1298C в группе детей с расстройствами аутистического спектра по сравнению с группой здоровых детей (табл. 1).

Таблица 1 – Распределение полиморфных вариантов генов фолатного цикла в первой и второй группе

Локус	Генотип	Первая группа, n=102		Вторая группа, n=85		χ^2 , p
		n	%	n	%	
MTHFR A1298C	AA	49	48	48	56	4,55584 p=0,102
	AC	41	40	34	40	
	CC	12	11,7	3	4	
MTHFR C677T	CC	34	33	43	51	9,36724, p=0,009
	CT	45	44	35	41	
	TT	23	22,5	7	8	
MTRR A66G	AA	22	21,5	35	41	12,6350 p=0,001
	AG	50	49	40	47	
	GG	30	29	10	12	
MTR A2756G	AA	50	49	45	53	3,34797 p=0,187
	AG	36	35	34	40	
	GG	16	15,6	6	7	

Однако, как видно из таблицы 1, статистически достоверно различаются частоты полиморфизма генов MTHFR C677T ($\chi^2=9,36$; $p=0,0092$) и MTRR A66G ($\chi^2=12,63$; $p=0,001$).

Известно, что гомозиготные, аллельные варианты генов фолатного цикла являются наиболее неблагоприятным вариантом носительства и способствуют снижению активности фермента фолатного цикла на 65-70% [8]. В связи с этим, фермент, который кодируется гомозиготным полиморфным вариантом, не выполняет свою функцию в фолатном цикле и приводит к значимым метаболическим нарушениям в организме человека. Однако усиление неблагоприятного влияния полиморфизмов фолатного цикла происходит по мере накопления мутаций.

По данным научных публикаций, частота распределения мутантной аллели по полиморфизму гена MTHFR C677T в белорусской популяции среди здоровых людей составляет 32,2%, что сопоставимо с распределением частот в других европейских популяциях, за исключением итальянской (46%) [7].

Результаты нашего исследования демонстрируют более высокие значения распределений гомозиготных аллелей генов MTRR A66G и MTHFR C677T у детей с расстройствами аутистического спектра. Как следует из данных таблицы 2, отмечается тенденция к увеличению частот аллеля G (53,9%) гена MTRR A66G и аллеля T (44,6%) гена MTHFR C677T в группе детей с расстройствами аутистического спектра по сравнению с группой здоровых детей – 35,29% и 28,8%.

Многочисленные научные исследования демонстрируют противоречивые результаты о влиянии полиморфных вариантов различных генов фолатного цикла на риск развития расстройств аутистического спектра.

Имеются исследования, доказывающие, что дефицит фолиевой кислоты у матери в течение 1-го месяца беременности и полиморфизм гена MTHFR C677T повышает риск рождения детей с РАС [9]. Группа учёных из Турции в своих исследованиях отмечает, что полиморфизм гена MTHFR C677T чаще встречается у детей с аутизмом [10]. В свою очередь, учёные из Кореи изучили взаимосвязь между риском развития расстройств аутистического спектра и полиморфизмом генов MTHFR C677T, MTHFR A1298C [11]. В своём исследовании авторы утверждают о достоверной взаимосвязи полиморфизма гена MTHFR C677T и повышенному риску развития РАС [12]. Однако результаты научного исследования, проведённого учёными из Китая, опровергают влияние полиморфизмов генов фолатного цикла на риск развития расстройств аутистического спектра в Ханьской китайской популяции [13].

С целью оценить влияние мутаций полиморфизма генов фолатного цикла на риск развития расстройств аутистического спектра у детей г.Гродно и Гродненской области вычисляли отношения шансов (ОШ). В группу риска включали гомозиготы и гетерозиготы по полиморфному аллелю. Значимым фактором для риска развития расстройств аутистического спектра считали, если показатель относительных шансов с поправкой на ДИ превышал единицу.

При анализе ОШ были получены статистически достоверные значения для мутантных аллелей G и T генов MTRR A66G, MTHFR C677T. Отношения шансов для G аллеля гена MTRR A66G составили 2,145, для T аллеля гена MTHFR C677T – 1,989. Нижняя граница значений ОШ для мутантных аллелей генов MTRR A66G и MTHFR C677T при внесении поправок на 95% ДИ также составила больше единицы: 1,412, 1,291.

Таблица 2 – Распределение частот аллелей генов фолатного цикла в первой и второй группе

Локус	Аллель	Первая группа, n=102		Вторая группа, n=85		ОШ (95% ДИ)
		n	%	n	%	
MTHFR C677T	C	113	55,3	121	71,1	1,989 (1,291-3,062)
	T	91	44,6	49	28,8	
MTRR A66G	A	94	46	110	64,7	2,145 (1,412-3,062)
	G	110	53,9	60	35,29	
MTR A2756G	A	136	66,6	124	72,9	1,348 (0,863-2,106)
	G	68	33,3	46	27	
MTHFR A1298C	A	139	68,1	130	76,4	0,235 (0,959-2,409)
	C	65	31,8	40	23,5	

В связи с полученными результатами можно предположить, что ген MTHFR C677T, а именно мутантная гомозигота Т/Т является значимым фактором, оказывающим влияние на риск развития расстройств аутистического спектра у детей г. Гродно и Гродненской области, что сопоставимо с результатами исследования ученых из Египта и Турции [3, 10]. В то же время, наше исследование показало, что гомозиготный полиморфный вариант G/G гена MTRR A66G также является фактором риска развития расстройств аутистического спектра.

Заключение

Таким образом, анализ показателей распределения аллелей и полиморфных вариантов генов фолатного цикла в нашем исследовании отражает тенденцию к увеличению доли гомозиготных полиморфизмов генов фолатного цикла в группе детей с расстройствами аутистического спектра по сравнению с группой здоровых детей. Более высокие значения распределений гомозиготных аллелей генов MTRR A66G и MTHFR C677T у детей с расстройствами аутистического спектра свидетельствуют о том, что полиморфные варианты данных генов, вероятно, могут оказывать значимое влияние на характер метилирования ДНК, тем самым являться участниками иммуногенетической теории развития РАС.

По нашему мнению, наличие гомозиготных полиморфизмов генов MTHFR C677T и MTRR A66G и их ассоциаций может указывать на риск развития расстройств аутистического спектра у детей.

Литература

1. Бизиукевич, С. В. Генетические аспекты этиопатогенеза расстройств аутистического спектра. Обзор литературы / С. В. Бизиукевич, В. А. Карпюк // Психиатрия, психотерапия и клин. психология. – 2019. – Т. 10, № 1. – С. 148–156.
2. Analysis of methionine synthase (rs1805087) gene

References

1. Biziukevich SV, Karpiuk VA. Genetic aspects of the etiopathogenesis of autism spectrum disorders. Literature review. *Psikhiatriia Psikhoterapiia Klin Psikhologiya*. 2019;10(1):148-56. (In Russ.)

- polymorphism in autism patients in Northern Iran / R. Haghiri [et al.] // *Acta. Neurobiol. Exp. (Wars.)*. – 2016. – Vol. 76, N 4. – P. 318–323.
3. Study of the C677T and 1298AC polymorphic genotypes of MTHFR Gene in autism spectrum disorder / F. El-Baz [et al.] // *Electron. Physician*. – 2017 Sep. – Vol. 9, N 9. – P. 5287–5293.
4. Гречанина, Е. Я. Аутизм. Генетические и эпигенетические проблемы / Е. Я. Гречанина // *Наук. журн. МОЗ України*. – 2013. – № 2. – С. 29–48.
5. Мальцев, Д. В. Расширенный клинико-лабораторный фенотип при генетически детерминированном нарушении фолатного цикла у детей с расстройствами спектра аутизма / Д. В. Мальцев // *Международ. неврол. журн.* – 2018. – Т. 5, № 99. – С. 5–19.
6. Мальцев, Д. В. Дефіцит природних кілерних Т-клітин / Д. В. Мальцев // *Україн. мед. журн.* – 2015. – № 1. – С. 65–70.
7. Полиморфизм C677T гена MTHFR в белорусской популяции / А. А. Яцкив [и др.] // *Научный потенциал молодежи – будущему Беларуси : материалы VII Международ. молодеж. науч.-практ. конф., Пинск, Респ. Беларусь, 10 апр. 2013 г. Ч. 2 / редкол.: К. К. Шебеко [и др.]*. – Пинск : ПолесГУ, 2013. – С. 232–234.
8. Фолаты в XXI веке вне беременности. Только доказанные факты : информ. письмо / под ред. В. Е. Радзинского. – Москва : Ред. журн. Status Praesens, 2014. – 16 с.
9. Жилиева, Т. В. Прием фолатов при беременности и риск аутизма у потомства / Т. В. Жилиева, Ж. В. Альбицкая, Л. Н. Касимова // *Психиатрия на этапах реформ: проблемы и перспективы [Электронный ресурс] : XVI съезд психиатров России, Всерос. науч.-практ. конф. с междунар. участием, Казань, 23–26 сент. 2015 г. : тезисы / под общ. ред. Н. Г. Незнанова*. – Санкт-Петербург : Альфа Астра, 2015. – С. 194–195. – 1 электрон. опт. диск (CD-ROM).
10. Sener, E. F. MTHFR Gene C677T polymorphism in autism spectrum disorders / E. F. Sener, D. B. Oztop, Y. Ozkul // *Genet. Res. Int.* – 2014. – Vol. 2014. – P. 698574.
11. MTHFR 1298A>C is a risk factor for autism spectrum disorder in the Korean population / J. Park [et al.] // *Psychiatry Res.* – 2014 Jan. – Vol. 215, N 1. – P. 258–259.
12. Pu, D. Association between gene MTHFR polymorphisms and the risk of autism spectrum disorders: a meta-analysis / D. Pu, Y. Shen, J. Wu // *Autism Res.* – 2013 Oct. – Vol. 6, N 5. – P. 384–392.
13. Association study of polymorphisms in genes relevant to vitamin B12 and folate metabolism with childhood autism spectrum disorder in a Han chinese population / Z. Zhang [et al.] // *Med. Sci. Monit.* – 2018 Jan. – Vol. 24. – P. 370–376.

Поступила 24.03.2020 г.

Принята в печать 01.06.2020 г.

2. Haghiri R, Mashayekhi F, Bidabadi E, Salehi Z. Analysis of methionine synthase (rs1805087) gene polymorphism in autism patients in Northern Iran. *Acta Neurobiol Exp (Wars)*. 2016;76(4):318-323. doi: 10.21307/ane-2017-030
3. El-Baz F, El-Aal MA, Kamal TM, Sadek AA, Othman AA. Study of the C677T and 1298AC polymorphic genotypes

- of MTHFR Gene in autism spectrum disorder. Electron Physician. 2017 Sep;9(9):5287-5293. doi: 10.19082/5287
4. Grechanina EYa. Autizm. Genetic and epigenetic problems. Nauk Zhurn MOZ Ukraïni. 2013;(2):29-48. (In Russ.)
 5. Mal'tsev DV. An expanded clinical and laboratory phenotype in genetically determined folate cycle disorders in children with autism spectrum disorders. Mezhdunar Nevrol Zhurn. 2018;5(99):5-19. (In Russ.)
 6. Мальцев ДВ. Дефіцит природних кілерних Т-клітин. Украин Мед Журн Mal'tsev DV. Deficiency of natural killer T cells. Ukrain Med Zhurn. 2015;(1):65-70. (In Ukr.)
 7. Yatskiv AA, Ermak OA, Ruzhilo OS, Lebed' T. C677T Polymorphism of the MTHFR Gene in the Belarusian Population. V: Shebeko KK i dr, redkol. Nauchnyi potentsial molodezhi – budushchemu Belarusi: materialy VII Mezhdunar molodezh nauch-prakt konf, Pinsk, Resp Belarus', 10 apr 2013 g. Ch 2. Pinsk, RB: PolesGU; 2013. P. 232-4. (In Russ.)
 8. Radzinskiy VE, red. Foliates in the 21st century outside pregnancy. Only proven facts. Moscow, RF: Red zhurn Status Praesens; 2014. 16 p. (In Russ.)
 9. Zhilyaeva TV, Al'bitskaya ZhV, Kasimova LN. Taking folates during pregnancy and the risk of autism in offspring. V: Neznanov NG, red. Psikhiiia na etapakh reform: problemy i perspektivy [Elektronnyi resurs]: XVI s'ezd psikhiatrov Rossii, Vseros nauch-prakt konf s mezhdunar uchastiem, Kazan', 23–26 sent 2015 g: tezisy. Saint Petersburg, RF: Al'ta Astra; 2015. R. 194-5. 1 elektron opt disk (CD-ROM). (In Russ.)
 10. Sener EF, Oztop DB, Ozkul Y. MTHFR Gene C677T polymorphism in autism spectrum disorders. Genet Res Int. 2014;2014:698574. doi: 10.1155/2014/698574
 11. Park J, Ro M, Pyun JA, Nam M, Bang HJ, Yang JW, et al. MTHFR 1298A>C is a risk factor for autism spectrum disorder in the Korean population. Psychiatry Res. 2014 Jan;215(1):258-9. doi: 10.1016/j.psychres.2013.11.006
 12. Pu D, Shen Y, Wu J. Association between gene MTHFR polymorphisms and the risk of autism spectrum disorders: a meta-analysis. Autism Res. 2013 Oct;6(5):384-92. doi: 10.1002/aur.1300
 13. Zhang Z, Yu L, Li S, Liu J. Association study of polymorphisms in genes relevant to vitamin B12 and folate metabolism with childhood autism spectrum disorder in a Han chinese population. Med Sci Monit. 2018 Jan;24:370-376. doi: 10.12659/msm.905567

Submitted 24.03.2020

Accepted 01.06.2020

Сведения об авторах:

Бизюкевич С.В. – старший преподаватель кафедры психиатрии и наркологии, Гродненский государственный медицинский университет;

Карпюк В.А. – к.м.н., доцент, заведующая кафедрой психиатрии и наркологии, Гродненский государственный медицинский университет.

Information about authors:

Biziukevich S.V – senior lecturer of the Chair of Psychiatry and Narcology, Grodno State Medical University;

Karpiuk V.A. – Candidate of Medical Sciences, associate professor, head of the Chair of Psychiatry and Narcology, Grodno State Medical University.

Адрес для корреспонденции: Республика Беларусь, 230009, г. Гродно, ул. Обухова, 15/1, Гродненский государственный медицинский университет, кафедра психиатрии и наркологии. E-mail: svetlana.lana13@mail.ru – Бизюкевич Светлана Викторовна.

Correspondence address: Republic of Belarus, 230009, Grodno, 15/1 Obukhov str., Grodno State Medical University, Chair of Psychiatry and Narcology. E-mail: svetlana.lana13@mail.ru – Svetlana V. Biziukevich.

ИССЛЕДОВАНИЕ ПРИЧИН ВЫЗОВОВ БРИГАД СКОРОЙ (НЕОТЛОЖНОЙ) МЕДИЦИНСКОЙ ПОМОЩИ В АПТЕКИ ГОРОДА ВИТЕБСКА ЗА 2016-2018 гг.

КУГАЧ В.В., ШАБУНИН Е.С.

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

Вестник ВГМУ. – 2020. – Том 19, №3. – С. 112-118.

RESEARCH OF THE REASONS FOR CALLING IN EMERGENCY MEDICAL CARE TEAMS TO THE PHARMACIES OF VITEBSK CITY DURING 2016-2018

KUHACH V.V., SHABUNIN Y.S.

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

Vestnik VGMU. 2020;19(3):112-118.

Резюме.

Статья посвящена анализу причин вызовов бригад скорой (неотложной) медицинской помощи (СНМП) в аптеки города Витебска в период с 01.01.2016 по 31.12.2018. Результаты работы основываются на архивных данных, полученных в учреждении здравоохранения «Витебская городская станция скорой и неотложной медицинской помощи». Выявлено, что за три календарных года из 151 аптеки первой, второй и пятой категории г. Витебска, осуществляющей розничную реализацию лекарственных средств, на станцию СНМП поступило 242 вызова: экстренных 37 (15,29%), неотложных – 205 (84,71%). Причинами вызовов послужили заболевания и состояния, отнесенные к 13 классам Международной статистической классификации болезней десятого пересмотра (МКБ-10). Наибольшее количество вызовов связано с болезнями системы кровообращения, психическими расстройствами и расстройствами поведения, обмороками и травмами различной степени тяжести. Медицинская помощь на месте была оказана 97 (40,08%) посетителям аптек; 116 (47,93%) доставлены в стационары; 29 (11,98%) вызовов оказались безрезультатными. Сделаны выводы о необходимости разработки алгоритмов действий фармацевтических работников для оказания скорой медицинской помощи посетителям аптек и мероприятий по предотвращению безрезультатных вызовов бригад СНМП в аптеки.

Ключевые слова: скорая (неотложная) медицинская помощь, аптека, причины вызовов, бригада скорой медицинской помощи.

Abstract.

The article is devoted to the analysis of the reasons for calling in emergency medical care (EMC) teams to Vitebsk pharmacies during the period from January 1, 2016 to December 31, 2018. The results of the work are based on archival data obtained at the medical institution «Vitebsk First Aid Station». The study revealed that during 3 years first aid station received 242 calls from 151 Vitebsk pharmacies of the first, second and fifth categories; 37 (15.29%) calls were classified as emergent and 205 (84.71%) as urgent. The causes of the calls were diseases and conditions assigned to 13 classes in accordance with the International Statistical Classification of Diseases of the tenth revision (ICD-10). The majority of these calls were due to diseases of the circulatory system, mental disorders and behavioral disorders, fainting and injuries of different severity. Medical aid on the spot was provided to 97 (40.08%) pharmacy visitors; 116 (47.93%) of them were transported to hospitals; 29 (11.98%) calls were in vain. Conclusions have been made about the necessity to develop algorithms of actions for the pharmaceutical workers to provide emergency medical care to pharmacy visitors and to take measures aimed at prevention of ineffective calls of EMC teams to pharmacies.

Key words: ambulance (emergency) medical care, pharmacy, causes of calls, ambulance team.

В системе оказания медицинской помощи населению на догоспитальном этапе важная роль принадлежит службе скорой медицинской помощи, которая круглосуточно обеспечивает медицинскую помощь взрослому и детскому населению на месте происшествия и по пути следования в стационар [1].

При состояниях, угрожающих жизни и здоровью человека, важно, чтобы медицинская помощь была оказана немедленно или в первые 1,0-1,5 часа [2, 3]. В медицине катастроф существуют понятия «10 платиновых минут» и «золотой час» – периоды времени, когда оказанная пострадавшему медицинская помощь наиболее эффективна [4, 5].

Неотъемлемым участником системы здравоохранения является фармацевтический работник. Международная медицинская и фармацевтическая общественность рассматривают провизора и фармацевта как самых доступных для населения специалистов здравоохранения [6]. В связи с увеличением стоимости врачебного приема, изменением стиля жизни, возрастанием уровня информации о способах лечения различных заболеваний, расширением рынка безрецептурных лекарственных средств население при наличии проблем со здоровьем все чаще обращается не к медицинскому работнику, а в аптеку. При этом зарубежные аптеки участвуют в масштабных профилактических программах и вакцинации населения, выполняют ряд диагностических тестов, несложных медицинских манипуляций и косметических процедур [7].

Белорусские аптеки также нередко становятся местом, где населению требуется медицинская помощь. Об этом свидетельствуют наши предыдущие исследования, которыми установлено, что из аптек г.г. Могилева, Бреста и Гомеля вызовы на станцию СНМП поступали от 57 до 169 раз в год. Поводом для вызова бригад СНМП для оказания медицинской помощи посетителям аптек были различного рода заболевания и состояния: болезни сердечно-сосудистой системы, психические расстройства, потеря сознания, заболевания нервной системы, травмы и отравления и др. [8-10].

Обязанность оказания скорой медицинской помощи фармацевтическими работниками Республики Беларусь закреплена Законом «О здравоохранении». Вид и объем оказания скорой медицинской помощи фармацевтическими работниками Законом не регулируется. На данный момент для фармацевтических работников Републики Беларусь не разработана упорядоченная процедура действий в ситуациях, требующих оказания скорой медицинской помощи посетителям аптек [11].

Для разработки такой процедуры, программ обучения фармацевтических работников правилам и методам оказания медицинской помощи важно выявить основные заболевания и состояния, которые возникают у посетителей аптек, требующих вызова бригады СНМП.

Целью настоящей работы является исследование причин вызовов бригад СНМП в аптеки города Витебска в период с 01.01.2016 по 31.12.2018.

Материал и методы

В Витебске на 01.01.2019 имели лицензию на фармацевтическую деятельность, связанную с розничной реализацией лекарственных средств, 175 аптек (71 – государственной формы собственности (40,57%), 104 – частной (59,43%)) [12]. Из них 2 аптеки первой категории (1,14%), 21 аптека второй категории (12,00%), 24 аптеки четвертой категории (13,72%), 128 аптек пятой категории (73,14%). В исследование включили 151 аптеку первой, второй и пятой категории и не включили 24 аптеки четвертой категории, расположенные в поликлиниках и больницах. Проведена ретроспективная оценка вызовов бригад СНМП в аптеки на основании архивных данных, полученных в учреждении здравоохранения «Витебская городская станция скорой и неотложной медицинской помощи», за период с 01.01.2016 по 31.12.2018.

В работе использовали методы исследования: эмпирические (сравнение, изучение документов и информационных материалов) и комплексно-комбинированные (анализ и синтез). Расчеты и обработку полученных данных проводили с помощью программы Microsoft Office Excel 365.

Результаты и обсуждение

Нами определено, что за исследуемый период в УЗ «Витебская городская станция СНМП» поступили вызовы из 83 аптек (54,97%) (26 – государственных, 31,33%, 57 – частных, 68,67%). Больше количество вызовов (138, 57,02%) поступило из частных аптек, меньшее (104, 42,98%) – из государственных. Суммарное количество вызовов за исследуемый период составило 242.

Наблюдается тенденция роста количества вызовов бригад СНМП в аптеки г. Витебска: в 2016 году работники аптек вызывали бригаду СНМП 74 раза, в 2017 – 79, в 2018 – 89 раз.

В Республике Беларусь вызовы бригад СНМП подразделяются на экстренные и неотложные. Диспетчер станции СНМП при экстренном вызове не позднее 5 минут обязан передать вызов бригаде СНМП, при неотложном – не позднее 1 часа [13]. Определено, что из 242 исследуемых вызовов 37 относились к экстренным (15,29%), 205 – к неотложным (84,71%).

Нами установлено, что медицинская помощь посетителям аптек потребовалась в разное время суток. Максимальное количество вызовов характерно для середины дня – с 12 до 17 часов. За это время состоялось 132 (54,55%) вызова с пиком 28 (11,57%) вызовов в 15 часов (рис. 1).

Медицинская помощь потребовалась посетителям аптек г. Витебска, которые относились к различным возрастным группам согласно классификации ВОЗ [14]. Наибольшее количество вызовов СНМП отмечено для пожилых посетителей аптек – к ним бригады СНМП выезжали на вызов 77 раз (31,82%), далее следовали молодые (65 человек, 26,86%) и лица среднего возраста (62 раза, 25,62%). 9 раз причиной вызова были проблемы со здоровьем у лиц до 18 лет (дети) – 3,72%. К должностям вызовов бригад СНМП не поступало.

Бригадами СНМП посетителям аптек г. Витебска было поставлено 58 диагнозов, относящихся к 13 классам МКБ-10 [15]. Ведущими по количеству в этом списке были «Болезни системы кровообращения», «Психические расстройства и расстройства поведения», «Факторы, влияющие

на состояние здоровья населения и обращения в учреждения здравоохранения» (табл. 1).

Уточнение диагнозов показало, что причинами вызовов бригад СНМП послужили 212 заболеваний и состояний. Наиболее распространенными оказались артериальная гипертензия, нейроциркуляторная дистония, обморок, алкогольное опьянение и абстинентный синдром, травмы различной степени тяжести (раны головы, переломы, черепно-мозговые травмы и вывихи). Именно на медицинскую помощь при данных заболеваниях должно быть уделено внимание при разработке программ обучения студентов фармацевтических факультетов и повышения квалификации специалистов с фармацевтическим образованием. Реже встречались судорожный припадок, транзиторные церебральные ишемические атаки, инсульт, стенокардия. У посетителей аптек диагностированы отравления, сердечная недостаточность, заболевания желудочно-кишечного тракта, сахарный диабет, аллергические реакции и др. Необходимо отметить разнообразие проблем со здоровьем у посетителей аптек, с которыми приходится сталкиваться фармацевтическим работникам и которые могут вызвать у них затруднения при описании состояния пациента диспетчеру станции СНМП (табл. 2).

Бригадой СНМП были доставлены из аптек в учреждения здравоохранения г. Витебска 114 пациентов (47,11%). После оказания медицинской помощи на месте вызова 52 пациента (21,49%) в госпитализации не нуждались; 42 пациента (17,36%) от дальнейшей госпитализации отказались. В 15 случаях (6,19%) вызов был отменен в связи с отказом пациента от помощи бригады СНМП. На месте не оказалось 9 паци-

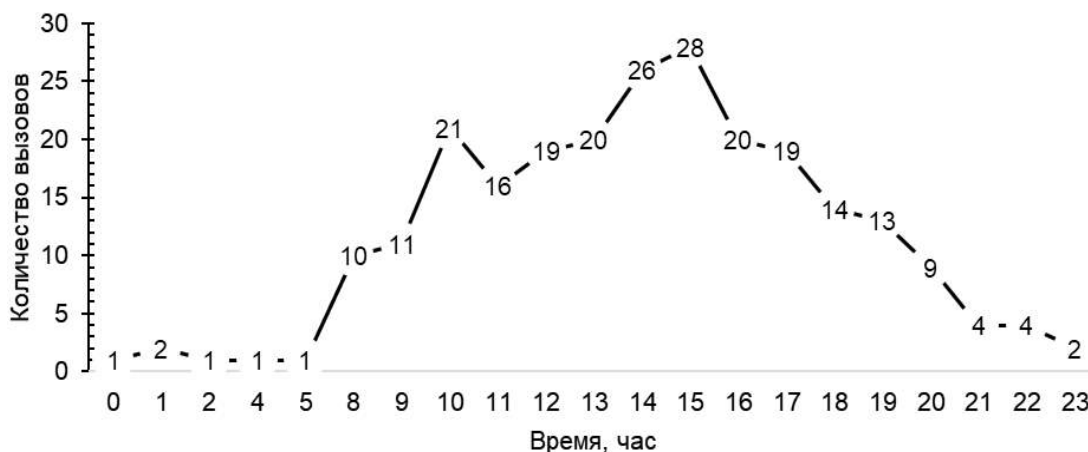


Рисунок 1 – Распределение вызовов бригад СНМП в аптеки г. Витебска в зависимости от времени суток.

Таблица 1 – Распределение болезней, ставших причиной вызова бригады СНМП в аптеки г. Витебска в период с 01.01.2016 по 31.12.2018, по классам МКБ-10

Класс болезней	Количество случаев	Доля, %
Некоторые инфекционные и паразитарные болезни (A00-B99)	2	0,83
Беременность, роды и послеродовой период (O00-O99)	3	1,24
Болезни костно-мышечной системы и соединительной ткани (M00-M99)	4	1,65
Болезни мочеполовой системы (N00-N99)	3	1,24
Болезни нервной системы (G00-G99)	13	5,37
Болезни органов дыхания (J00-J99)	10	4,13
Болезни органов пищеварения (K00-K93)	5	2,07
Болезни системы кровообращения (I00-I99)	78	32,23
Болезни эндокринной системы, расстройства питания и нарушения обмена веществ (E00-E90)	4	1,65
Психические расстройства и расстройства поведения (F00-F99)	41	16,94
Симптомы, признаки и отклонения от нормы, выявленные при клинических и лабораторных исследованиях, не классифицированные в других рубриках (R00-R99)	27	11,16
Травмы, отравления и некоторые другие последствия воздействия внешних причин (S00-T98)	22	9,09
Факторы, влияющие на состояние здоровья населения и обращения в учреждения здравоохранения (Z00-Z99)	30	12,40
Всего	242	100,00

ентов (3,72%); 4 пациента (1,65%) отказались от помощи бригады СНМП после ее прибытия в аптеку. По 2 случая приходилось на передачу пациента специализированной бригаде (0,83%) и органам внутренних дел (0,83%). Одного пациента (0,41%) доставили домой; один (0,41%) пациент был практически здоров и в медицинской помощи не нуждался.

Таким образом, медицинская помощь была оказана на месте вызова или в условиях стационара 213 посетителям аптек из 242, к которым вызывалась бригада СНМП, – в 88,02% случаев. Оставшиеся 29 вызовов (11,98%) были безрезультатными.

Результаты проведенного исследования показывают, что количество вызовов бригад СНМП к посетителям аптек города Витебска с каждым годом увеличивается. Разнообразие заболеваний и состояний свидетельствуют о важности и значимости компетенций фармацевтических работников аптек по оказанию скорой медицинской помощи посетителям аптек. Необходимость четко и уверенно действовать в нестандартных ситуациях свидетельствует об актуальности разработки алгоритмов действий фармацевтических работников при обращении пациентов за медицинской помощью в аптеку.

Заключение

1. Из аптек г. Витебска в период с 2016 по 2018 гг. станцией СНМП зарегистрировано 242 вызова бригад СНМП, 37 из которых были экстренными, 205 – неотложными.

2. По результатам вызовов медицинскими работниками СНМП выставлено 58 диагнозов, относящихся к 13 классам МКБ-10.

3. В качестве причин вызова бригад СНМП в аптеки г. Витебска преобладали артериальная гипертензия, нейроциркуляторная дистония, алкогольное опьянение и абстиненция, обморок, травмы различной степени тяжести.

4. Установлено, что в результате вызовов бригад СНМП в аптеки г. Витебска 116 человек (47,93%) были госпитализированы, 97 пациентам (40,08%) оказана медицинская помощь бригадами СНМП в аптеках. В 29 случаях (11,98%) вызовы были безрезультатными: пациенты не дождались бригады СНМП либо отказались от медицинской помощи.

5. Для повышения качества мероприятий по оказанию скорой медицинской помощи посетителям аптек фармацевтическими работниками целесообразна разработка алгоритма действий при возникновении у посетителей проблем со

Таблица 2 – Наиболее распространенные заболевания и состояния, ставшие причиной вызова бригады СМП в аптеки г. Витебска в период с 01.01.2016 по 31.12.2018

Заболевание, состояние	Количество случаев	Доля от общего количества случаев, %
Артериальная гипертензия	39	18,40
Нейроциркуляторная дистония	20	9,43
Алкогольное опьянение и абстиненция (синдром отмены алкоголя)	19	8,96
Обморок	18	8,49
Рана головы, повреждение связок и менисков коленного сустава, перелом бедра и предплечья, черепно-мозговые травмы легкой и средней степени, вывих запястья, кисти	12	5,66
Судорожный припадок	8	3,77
Переходящие транзиторные церебральные ишемические приступы (атаки) и родственные синдромы	7	3,30
Инсульт неуточненный как кровоизлияние или инфаркт и его последствия	7	3,30
Стенокардия нестабильная и стенокардия напряжения	7	3,30
Астма бронхиальная	6	2,83
Энцефалопатия деструктивная	6	2,83
Мерцательная аритмия	6	2,83
Гипотензия	6	2,83
Отравления (лекарственными средствами, кислотами и щелочами, алкоголем, веществом неуточненной химической природы)	6	2,83
Другие заболевания сердца (пароксизмальная наджелудочковая тахикардия, сердечная недостаточность)	6	2,83
Остеохондроз	4	1,89
Заболевания желудочно-кишечного тракта (острый аппендицит, острый панкреатит, цирроз печени, холецистит)	4	1,89
Сахарный диабет и диабетическая кома	4	1,89
Аллергия неуточненная	3	1,42
Угрожающий аборт	3	1,42
Острая респираторная вирусная инфекция	3	1,42
Другие заболевания, состояния	18	8,49
Всего:	212	100,00

здоровьем, включая мероприятия по снижению количества безрезультативных вызовов бригад СМП.

Литература

- Василевич, Н. В. Сравнительная оценка показателей работы службы скорой медицинской помощи по обслуживанию населения г. Гомеля и Гомельского района, факторы, влияющие на ее эффективность / Н. В. Василевич, Э. Н. Платошкин, Д. В. Попков // Проблемы здоровья и экологии. – 2009. – № 3. – С. 140–144.
- Бейсенбаева, Ж. М. Характеристика скорой медицинской помощи больным кардиологического профиля в Южно-Казахстанской области / Ж. М. Бейсенбаева, О. Е. Коновалов // Исследования и практика в медицине. – 2017. – Т. 4, № 3. – С. 128–133.
- Медицинская подготовка спасателей : учеб. пособие / сост. Ю. Н. Цыганов. – Ульяновск : УВАУ ГА, 2008. – 150 с.
- Козиев, М. П. Обоснование концепции «золотого часа» при острой кровопотере / М. П. Козиев, С. М. Горбачева // Сибир. мед. журн. – 2011. – № 6. – С. 108–110.
- Лаврикова, Е. М. Тактико-специальные учения в системе повышения качества медицинского обеспечения пострадавших в дорожно-транспортных происшествиях / Е. М. Лаврикова // Медицина: вызовы сегодняшнего дня : материалы II Междунар. науч. конф. (г. Москва, дек. 2013 г.). – Москва : Буки-Веди, 2013. – С. 4–6.
- Тарасова, Е. Н. Некоторые аспекты безрецептурного отпуска лекарственных средств / Е. Н. Тарасова, В. В. Кугач // Вестн. фармации. – 2006. – № 1. – С. 9–18.
- Кугач, В. В. Медицинская помощь в зарубежных аптеках / В. В. Кугач, Е. С. Шабуниин // Достижения фундаментальной, клинической медицины и фармации [Электронный ресурс] : материалы 75-й науч. сес. ВГМУ (29–30 янв. 2020 г.). – Витебск : ВГМУ, 2020. – С. 593–594. – 1 электрон. опт. диск (CD-ROM). – Загл. с этикетки диска.
- Кугач, В. В. Проблемные вопросы оказания скорой ме-

- дицинской помощи посетителям аптек / В. В. Кугач, Е. С. Шабунин, Е. В. Игнат'ева // Вестн. фармации. – 2017. – № 1. – С. 20–29.
9. Шабунин, Е. С. Анализ вызовов бригад скорой неотложной медицинской помощи в аптеки города Бреста за 2015–2017 годы / Е. С. Шабунин, В. В. Кугач // Достижения фундаментальной, клинической медицины и фармации [Электронный ресурс] : материалы 74-й науч. сес. ВГМУ (23–24 янв. 2019 г.). – Витебск : ВГМУ, 2019. – С. 498–500. – 1 электрон. опт. диск (CD-ROM). – Загл. с этикетки диска.
 10. Шабунин, Е. С. Причины вызовов бригад скорой (неотложной) медицинской помощи в аптеки города Гомеля за 2016–2018 гг. / Е. С. Шабунин // Актуальные проблемы науки XXI века : материалы VII Всерос. науч.-практ. конф. студентов и молодых ученых с междунар. участием, 25–26 апр. 2019 г. – Смоленск : СГМУ, 2019. – С. 421–426.
 11. Кугач, В. В. Сравнительный анализ требований нормативных правовых актов в сфере здравоохранения по оказанию медицинской помощи фармацевтическими работниками в странах ЕАЭС / В. В. Кугач, Е. С. Шабунин // Вестн. фармации. – 2018. – № 4. – С. 59–73.
 12. Реестр лицензий [Электронный ресурс] // Министерство здравоохранения Республики Беларусь : [сайт]. – Режим доступа: <http://minzdrav.gov.by/ru/dlya-spetsialistov/litsenzirovanie/reestr-litsenzy/index.php>. – Дата доступа: 02.06.2020.
 13. О вопросах организации деятельности службы скорой медицинской помощи : постановление М-ва здравоохранения Республики Беларусь, 4 янв. 2020 г., № 2 // Нац. Реестр правовых актов Респ. Беларусь. – 2020. – № 8/35075.
 14. Русанова, Н. Е. Понятие возраста в демографии и современное старшее поколение / Н. Е. Русанова // Народонаселение. – 2013. – № 2. – С. 63–71.
 15. Международная статистическая классификация болезней и проблем, связанных со здоровьем : десятый пересмотр : крат. вариант / Белорус. центр мед. технологии, информатики, упр. и экономики здравоохранения ; гл. ред. И. Б. Зеленкевич. – Минск : Асар, 2001. – 400 с.

Поступила 26.03.2020 г.

Принята в печать 01.06.2020 г.

References

1. Vasilevich NV, Platoshkin EN, Popkov DV. Comparative evaluation of performance indicators of the ambulance service for servicing the population of Gomel and the Gomel region, factors affecting its effectiveness. *Problemy Zdorov'ia Ekologii*. 2009;(3):140-4. (In Russ.)
2. Beysenbaeva ZhM, Konovalov OE. Characteristics of emergency medical care for patients with a cardiological profile in the South Kazakhstan region. *Issledovaniia Praktika Meditsine*. 2017;4(3):128-33. (In Russ.)
3. Tsyganov YuN, sost. Rescue medical training: ucheb posobie. Ulyanovsk, RF: UVAU GA; 2008. 150 p. (In Russ.)
4. Koziev MP, Gorbacheva SM. Justification of the concept of the «golden hour» in acute blood loss. *Sibir Med Zhurn*. 2011;(6):108-10. (In Russ.)
5. Lavrikova EM. Special tactical exercises in the system of improving the quality of medical support for victims of road traffic accidents. V: *Meditsina: vyzovy segodniashnego dnia: materialy II Mezhdunar nauch konf (g Moskva, dek 2013 g)*. Moscow, RF: Buki-Vedi; 2013. P. 4-6. (In Russ.)
6. Tarasova EN, Kuhach VV. Some Aspects of OTC Drug Delivery. *Vestn Farmatsii*. 2006;(1):9-18. (In Russ.)
7. Kuhach VV, Shabunin ES. Medical assistance in foreign pharmacies. V: *Dostizheniia fundamental'noi, klinicheskoi meditsiny i farmatsii [Elektronnyi resurs]: materialy 75-i nauch ses VGMU (29-30 ianv 2020 g)*. Vitebsk, RB: VGMU; 2020. R. 593-4. 1 elektron opt disk (CD-ROM). Zagl s etiketki diska. (In Russ.)
8. Kuhach VV, Shabunin ES, Ignat'yeva EV. Problematic issues of providing emergency medical care to pharmacy visitors. *Vestn Farmatsii*. 2017;(1):20-9. (In Russ.)
9. Shabunin ES, Kuhach VV. Analysis of calls of emergency medical brigades to pharmacies of the city of Brest for 2015-2017. V: *Dostizheniia fundamental'noi, klinicheskoi meditsiny i farmatsii [Elektronnyi resurs]: materialy 74-i nauch ses VGMU (23-24 ianv 2019 g)*. Vitebsk, RB: VGMU; 2019. R. 498-500. 1 elektron opt disk (CD-ROM). Zagl s etiketki diska. (In Russ.)
10. Shabunin ES. Reasons for calls of ambulance (emergency) medical care teams in pharmacies in the city of Gomel for 2016-2018. V: *Aktual'nye problemy nauki XXI veka: materialy VII Vseros nauch-prakt konf studentov i molodykh uchenykh s mezhdunar uchastiem, 25-26 apr 2019 g*. Smolensk, RF: SGMU, 2019. P. 421-6. (In Russ.)
11. Kuhach VV, Shabunin ES. Comparative analysis of the requirements of regulatory legal acts in the field of healthcare for the provision of medical assistance by pharmaceutical workers in the EAEU countries. *Vestn Farmatsii*. 2018;(4):59-73. (In Russ.)
12. License registry [Elektronnyi resurs]. *Ministerstvo zdravookhraneniia Respubliki Belarus'*: [sait]. Rezhim dostupa: <http://minzdrav.gov.by/ru/dlya-spetsialistov/litsenzirovanie/reestr-litsenzy/index.php>. Data dostupa: 02.06.2020. (In Russ.)
13. About the organization of activities of the ambulance service: postanovlenie M-va zdravookhraneniia Respubliki Belarus', 4 ianv 2020 g, № 2. *Nats Reestr Pravovykh Aktov Resp Belarus'*. 2020. № 8/35075. (In Russ.)
14. Rusanova NE. The concept of age in demography and the modern older generation. *Narodonaselenie*. 2013;(2):63-71. (In Russ.)
15. Belarus tsentr med tekhnologii, informatiki, upr i ekonomiki zdravookhraneniia; Zelenkevich IB, red. *International Statistical Classification of Diseases and Health Problems: desiatiyi peresmotr: krat variant*. Minsk, RB: Asar; 2001. 400 p. (In Russ.)

Submitted 26.03.2020

Accepted 01.06.2020

Сведения об авторах:

Кугач В.В. – к.ф.н., доцент, начальник учебно-научно-производственного центра «Фармация», Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет,

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0274-5332>;

Шабунин Е.С. – магистр фармацевтических наук, аспирант, ассистент кафедры организации и экономики фармации с курсом ФПК и ПК, Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет,

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7612-3929>.

Information about authors:

Kuhach V.V. – Candidate of Pharmaceutical Sciences, associate professor; head of the Educational and Scientific-Practical Center «Pharmacy», Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University,

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0274-5332>;

Shabunin Y.S. – Master of Pharmaceutical Sciences, lecturer of the Chair of Organization and Economics of Pharmacy with the course of the Faculty for Advanced Training and Retraining, Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University,

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7612-3929>.

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: Jane-Shabunin@yandex.by – Шабунин Евгений Сергеевич.

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: Jane-Shabunin@yandex.by – Yauhen S. Shabunin.

К ЮБИЛЕЮ АЛЕКСАНДРА МИХАЙЛОВИЧА ЛИТВЯКОВА 70 ЛЕТ СО ДНЯ РОЖДЕНИЯ



Александр Михайлович Литвяков родился 8 апреля 1950 г. в Витебске. После окончания средней школы №3 поступил на лечебный факультет Витебского государственного медицинского института (1967-1973 гг.), где прекрасно учился и был лидером в студенческой среде. Его способности, любознательность и пылкий ум проявились уже в первые годы учебы. Ещё будучи студентом, он выбрал свое направление в медицине и проявил склонность к научной работе: с первого курса активно участвовал в работе студенческого научного кружка, а со второго курса был избран членом совета СНО ВГМИ. Во время учёбы Александр Литвяков разработал и изготовил оригинальную модель реографа, с помощью которого выполнено исследование бета-адренергических рецепторов печени при хронических гепатитах и циррозах печени и ряд других исследований на кафедре госпитальной терапии. Студенческие научные работы Литвякова дважды награждались медалями «За лучшую научную студенческую работу СССР», а в 1974 году он был награжден золотой медалью ВДНХ СССР.

Инициативный и очень деятельный, по окончании учебы в институте Александр Литвяков поступил в клиническую ординатуру на кафедру госпитальной терапии, на которой в дальнейшем прошел путь от старшего лаборанта до профессора и заведующего кафедрой (с 1997 года). Обучаясь в аспирантуре, защитил кандидатскую диссертацию в 1979 году, и в этом же году Литвяковым была создана первая в БССР научно-исследовательская лаборатория ультразвуковой диагностики, которая стала школой подготовки специалистов ультразвуковой диагностики для БССР и других республик СССР. Александр Михайлович в то же время активно занимался клинической работой и внедрением в практическое здравоохранение инновационных технологий обследования пациентов. Так, в 1980 году им была



разработана и внедрена в практическое здравоохранение первая служба ультразвуковой диагностики многопрофильной больницы и совместно с В.А. Костюченко был создан первый в мире программный комплекс автоматизированного рабочего места специалиста ультразвуковой диагностики, обеспечивающего в интерактивном режиме автоматический синтез текста (АРМ). Это была первая в республике практическая служба ультразвуковой диагностики, на базе которой в 1986 году был проведен первый в СССР республиканский семинар по ультразвуковой диагностике.

В 1991 году А.М. Литвяковым была защищена докторская диссертация в Московской медицинской академии им. И.М. Сеченова, а в 1994 году ему присвоено ученое звание профессора. С 1997 года и по настоящее время А.М. Литвяков является заведующим кафедрой внутренних болезней ВГМУ.

Александр Михайлович, талантливый педагог и блестящий лектор, неоднократно удостоивался звания «лучший лектор года». Он имеет очень высокий авторитет в студенческой среде. Его лекции отличаются как академичностью, так и новаторскими идеями, четкой последовательностью, глубиной, доходчивостью и иллюстративностью изложения материала. Опытный педагог, Литвяков подготовил целый ряд учебно-методических пособий для студентов и преподавателей, учебников по внутренним болезням, профессиональным болезням, ультразвуковой диагностике внутренних органов; создал оригинальные схемы, таблицы, слайды для чтения лекций и проведения практических занятий. Профессор Литвяков много внимания уделяет совершенствованию практических навыков, научно-исследовательской работе студентов, аспирантов, ординаторов. Александр Михайлович – врач высшей квалификационной категории. Наряду с большой учебно-методической и организационной деятельностью он проводит активную клиническую работу на базе Витебской областной клинической больницы с использованием современных инновационных технологий лечения заболеваний ревматологического и кардиологического профиля, внедряя современные подходы к диагностике и лечению. Активно участвует в проведении клинических конференций и утренних врачебных планерок. Им опубликовано более 200 научных работ, подготовлено 2 доктора медицинских наук и 5 кандидатов медицинских наук. А.М. Литвяков совместно со своими учениками внедряет в практическое здравоохранение Витебской области и республики разработанные ими инструкции на методы диагностики и лечения заболеваний внутренних органов, рационализаторские предложения.

Профессор Литвяков неоднократно награждался почетными грамотами и благодарностями Министерства здравоохранения Республики Беларусь, Управления по здравоохранению Витебского облисполкома и горисполкома, администрации Октябрьского района, администрации ВГМУ, почетными медалями. Александр Михайлович награждён знаком «Отличник здравоохранения Республики Беларусь».

Кипучая энергия, присущая профессору Литвякову А.М., вдохновляет и тех, кто работает рядом, и тех, кому доводится общаться с ним по разным вопросам. Качества прекрасного клинициста и педагога, трудолюбие, высокая эрудиция, принципиальность в решении многих вопросов, бескомпромиссность принесли ему заслуженный авторитет и уважение студентов, коллег, пациентов. Многие говорят о его даре опережать время, умении предвидеть и идти в авангарде научной мысли. Александр Михайлович стремится передать молодежи, коллегам не только клинический, но и жизненный опыт. Он убеждён, что защита диссертации стимулирует работу на самом высоком уровне и на максимуме своих возможностей, не останавливаться в развитии.

Уважаемый Александр Михайлович, коллектив кафедры внутренних болезней искренне поздравляет Вас с юбилеем и желает дальнейших творческих успехов! Здоровья, благополучия, бодрости духа и оптимизма, неизменного успеха в делах и человеческого счастья! Пусть Ваши деловые качества и впредь помогают решать самые ответственные задачи. А рядом всегда будут семья, друзья и единомышленники!

*Ректорат, коллектив кафедры внутренних болезней ВГМУ,
сотрудники университета*

КУНИЦКИЙ ВЛАДИМИР СЕРГЕЕВИЧ
(20.05.1958 г. – 31.05.2020 г.)



31 мая 2020 года в возрасте 62 лет ушёл из жизни кандидат медицинских наук, доцент, заведующий кафедрой оториноларингологии Куницкий Владимир Сергеевич.

В 1981 году окончил лечебный факультет Витебского государственного медицинского института. В 1982 г. окончил интернатуру по оториноларингологии на базе Витебской областной клинической больницы. С августа 1982 года работал врачом-оториноларингологом медсанчасти Оршанского льнокомбината. В 1985 году пришёл на кафедру оториноларингологии сначала в качестве клинического ординатора, а затем старшего лаборанта в 1987 году, аспиранта кафедры в 1991 году, ассистента в 1994 году. В 1999 году защитил кандидатскую диссертацию. В 2003 году решением ВАК Республики Беларусь ему присвоено звание доцента. В 2001 году был избран Ученым советом Витебского государственного медицинского университета на должность заведующего кафедрой оториноларингологии. В 2004 году присвоено звание «Отличник здравоохранения». Неоднократно награждался почётными грамотами УЗО и администрацией г. Витебска, университета и Министерства здравоохранения. В 2015 году получил грант Президента Республики Беларусь в области здравоохранения.

За время работы проявил себя талантливым врачом-оториноларингологом, активно и творчески проводил научные исследования и педагогическую работу, разрабатывал новые методы диагностики и лечения, которые широко использовал в клинической практике. В.С. Куницкий провёл более 4500 операций, многие из которых были внедрены в практику оториноларингологов впервые. Под руководством Владимира Сергеевича произошло развитие детской ЛОР-службы г. Витебска.

В.С. Куницкий является автором более 150 печатных работ. Им получено 3 патента Республики Беларусь, 14 рационализаторских предложений. В.С. Куницким подготовлено 4 инструкции по применению, утвержденные Министерством здравоохранения Республики Беларусь. Под его руководством защищено 3 кандидатские диссертации. В.С. Куницкий входил в состав правления Республиканского и являлся председателем областного научно-практического общества оториноларингологов, был членом Совета стоматологического факультета, клинического Совета Витебского государственного медицинского университета, проблемных комиссий, редакционных коллегий журналов «Новости хирургии» и «Оториноларингология. Восточная Европа».

В памяти коллег, сотрудников и студентов университета В.С. Куницкий останется как трудолюбивый, принципиальный, добросовестный и высококвалифицированный педагог, ученый, а также добрый, отзывчивый, порядочный человек. Память о нем сохранится в наших сердцах.

Коллектив сотрудников и студентов Витебского государственного медицинского университета, коллектив ЛОР-врачей г. Витебска выражают искреннее соболезнование родным и близким по случаю невозможной утраты.

*Ректорат, профком сотрудников, коллектив ЛОР-врачей г. Витебска,
сотрудники кафедры, студенты*

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 пристатейные 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 01.06.2020 г. Формат 1/8.

Бумага офсетная. Гарнитура «Таймс». Усл.печ. л. 14,42.

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.