



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

**2021**  
**Том 20**  
**№1**  
**(январь-  
февраль)**



МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ  
ВИТЕБСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ

# ВЕСТНИК

Витебского государственного медицинского университета

**Том 20      №1 (январь-февраль)      2021**

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

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

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

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

**Главный редактор:**

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

**Редакционная коллегия:**

Алексанин С.С. – д.м.н., профессор, г.Санкт-Петербург, Россия;  
Бекиш В.Я. – д.м.н., профессор, г.Витебск, Беларусь;  
Глушанко В.С. – д.м.н., профессор, г.Витебск, Беларусь;  
Городецкая И.В. – 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;  
Карпук И.Ю. – д.м.н., профессор, г.Витебск, Беларусь;  
Козловский В.И. – д.м.н., профессор, г.Витебск, Беларусь;  
Коневалова Н.Ю. – зам. главного редактора, д.б.н., профессор,  
г.Витебск, Беларусь;  
Конорев М.Р. – д.м.н., профессор, г.Витебск, Беларусь;  
Луд Н.Г. – д.м.н., профессор, г.Витебск, Беларусь;  
Лысенко О.В. – 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;  
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.

**Редакционный совет:**

Адаскевич В.П. – д.м.н., профессор, г.Витебск, Беларусь;  
Алексеев Ю.В. – к.м.н., доцент, г.Витебск, Беларусь;  
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;  
Ключкова С.В. – д.м.н., профессор, г.Москва, Россия;  
Литвяков А.М. – д.м.н., профессор, г.Витебск, Беларусь;  
Львов А.Н. – д.м.н., профессор, г.Москва, Россия;  
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., профессор, г.Витебск, Беларусь;  
Пискун Д.В. – к.м.н., г.Херизау, Швейцария;  
Рубникович С.П. – д.м.н., профессор, г.Минск, Беларусь;  
Сиврев Д.П. – д.м.н., профессор, г.Стара Загора, Болгария;  
Таганович А.Д. – д.м.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.филол.н., доцент; Ксениди И.Д., Лапурсева И.Н.; Флоряну И.А., к.филол.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](mailto:vestnik.vsmu@tut.by)  
Журнал зарегистрирован в Министерстве информации Республики Беларусь, свидетельство № 108 от 22.04.2009 г.

© Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет, 2021

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. 20      No. 1 (January-February)      2021**

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

Peer-reviewed scientific-practical journal. Founded in 2002. Frequency – 6 times 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;  
Glushanko V.S. – PhD, MD (Medicine), professor, Belarus;  
Gorodetskaya I.V. – PhD, MD (Medicine), professor, Belarus;  
Zhdanova O.B. – PhD, MD (Biology), professor, Russia;  
Zhebentyaev A.I. – PhD, MD (Pharmacy), professor, Belarus;  
Karpuk I.Y. – PhD, MD (Medicine), 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;  
Lud N.G. – PhD, MD (Medicine), professor, Belarus;  
Lysenko O.V. – PhD, MD (Medicine), professor, Belarus;  
Narkevich I.A. – PhD, MD (Pharmacy), professor, Russia;  
Pimanov S.I. – 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.

**Editorial council:**

Adaskevich V.P. – PhD, MD (Medicine), professor, Belarus;  
Alekseyenko Yu.V. – PhD (Medicine), associate professor, Belarus;  
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;  
Litvyakov A.M. – PhD, MD (Medicine), professor, Belarus;  
Lvov A.N. – PhD, MD (Medicine), professor, Russia;  
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), professor, Belarus;  
Piskun D.V. – PhD (Medicine), Switzerland;  
Rubnikov S.P. – PhD, MD (Medicine), professor, Belarus;  
Sivrev D.P. – PhD, MD (Medicine), professor, Bulgaria;  
Tahanovich A.D. – PhD, MD (Medicine), 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](mailto:vestnik.vsmu@tut.by)

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

© Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University, 2021

## СОДЕРЖАНИЕ

### Обзор

**Выхристенко Л.Р., Счастливенко А.И.,  
Бондарева Л.И., Сидоренко Е.В., Музыка О.Г.**  
Поражение почек при инфекции Covid-19

**Тилицкая Е.М., Семенов Г.В., Дашкевич Э.В.**  
HLA-ассоциированные антитромбоцитарные  
антитела. Обзор литературы

### Биохимия

**Осочук С.С., Яковлева О.С., Марцинкевич А.Ф.,  
Карпенко Е.А.**

Динамика морфологических изменений костной  
ткани лабораторных крыс, получавших аторвастатин  
и  $\alpha$ -кальцидол в течение 3-х и 6-ти месяцев

### Патологическая физиология

**Ткаченко А.С., Посохов Е.А.**

Исследование состояния фосфолипидного бислоя  
цитоплазматических мембран лейкоцитов крыс  
при пероральном употреблении пищевой  
добавки E407a

### Микробиология

**Артюх Т.В., Соколова Т.Н., Островская О.Б.**

Особенности резистентности клинических  
изолятов E.coli и C.albicans, образующих  
биопленку

### Хирургия

**Хотим О.А., Аносов В.С., Сычевский Л.З.**

Сравнительный анализ результатов оперативного  
лечения костных кист у детей

**Янушко В.А., Климчук И.П., Кордзахия Г.Э.,  
Попель Г.А.**

Мультифокальный атеросклероз: хирургическое  
лечение сочетанного атеросклеротического  
поражения сонных и магистральных артерий  
нижних конечностей

### Акушерство и гинекология

**Колбасова Е.А., Киселева Н.И., Наумов А.В.**

Серосодержащие аминокислоты и их  
производные метаболиты у женщин с  
климактерическим синдромом в постменопаузе

## CONTENTS

### Review

**7 Vykhrytsenka L.R., Schastlivenko A.I.,  
Bondarava L.I., Sidarenka A.V., Muzyka O.G.**  
Kidney damage in Covid-19 infection

**24 Tilitckaja E.M., Semenov G.V., Dashkevich E.V.**  
HLA-associated antiplatelet antibodies. Literature  
review

### Biochemistry

**31 Asochuk S.S., Yakovleva O.S., Martsinkevich A.F.,  
Karpenko E.A.**

The dynamics of bone tissue morphologic changes  
in laboratory rats receiving atorvastatin and  $\alpha$ -calcidol  
during three and six months

### Pathologic physiology

**40 Tkachenko A.S., Posokhov Y.A.**

The study of the phospholipid bilayer state of  
cell membranes in leukocytes of rats after oral  
consumption of E407a food additive

### Microbiology

**46 Artsiukh T.V., Sokolova T.N., Astrowskaja A.B.**

The resistance peculiarities of E.coli and C.albicans  
clinical isolates forming a biofilm

### Surgery

**55 Hotim O.A., Anosov V.S., Sychevskii L.Z.**

Comparative analysis of the results of surgical  
treatment for bone cysts in children

**62 Yanushko V.A., Klimchuk I.P., Kordzakhia G.E.,  
Popel G.A.**

Multifocal atherosclerosis: surgical treatment  
of combined atherosclerotic lesion of the carotid  
and main arteries of the lower extremities

### Obstetrics and gynecology

**72 Kolbasova E.A., Kiseleva N.I., Naumov A.V.**

Sulfur-containing amino acids and their metabolite  
derivatives in women with climacteric syndrome  
in post-menopause



**Лучевая диагностика, лучевая терапия**

**Гавриленко Д.И., Доманцевич В.А.,  
Филюстин А.Е., Доманцевич А.В.**

Ультразвуковое исследование легких у пациентов  
с пневмонией, ассоциированной с инфекцией  
Covid-19

**Общественное здоровье и здравоохранение**

**Ефремова Л.А., Коробов Г.Д., Глушанко В.С.**

Клинико-эпидемиологический анализ связи  
профессиональной бронхолегочной патологии со  
стажем работы на предприятиях льнопереработки

**Технология получения лекарств.**

**Фармацевтическая химия, фармакогнозия.  
Организация фармацевтического дела**

**Авсейко М.В., Яранцева Н.Д.**

Химический способ утилизации  
фармацевтических отходов группы ингибиторов  
ангиотензинпревращающего фермента

**Случай из практики**

**Прудников А.Р., Янченко В.В., Сидоренко О.Ф.,  
Никольская О.В.**

Клинический случай вторичного иммунодефицита  
на фоне приобретенной гиперхолестеринемии

**Новости**

**Правила для авторов**

**Radiodiagnosis and radiotherapy**

**81 Haurylenka D.I., Damantsevich V.A.,  
Filustsin A.E., Damantsevich A.V.**

Lung ultrasound in patients with Covid-19 infection  
associated pneumonia

**Public health and health service**

**91 Yefremova L.A., Korobov G.D., Glushanko V.S.**

Clinical and epidemiological analysis of the relationship  
between occupational bronchopulmonary pathology and  
work experience at flax processing enterprises

**Technology of drugs production.**

**Pharmaceutical chemistry, pharmacognosy.  
Organization of pharmacy**

**99 Avseiko M.V., Yarantseva N.D.**

Chemical method for disposal of pharmaceutical  
waste of angiotensin-converting-enzyme inhibitor  
group

**Case from practice**

**111 Prudnikov A.R., Yanchanka U.V., Sidarenka V.F.,  
Nikolskaya V.V.**

Clinical case of secondary immunodeficiency against  
the background of acquired hypercholesterolemia

**120 News**

**122 Instructions for authors**

## ПОРАЖЕНИЕ ПОЧЕК ПРИ ИНФЕКЦИИ COVID-19

**ВЫХРИСТЕНКО Л.Р., СЧАСТЛИВЕНКО А.И., БОНДАРЕВА Л.И., СИДОРЕНКО Е.В., МУЗЫКА О.Г.**

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

Вестник ВГМУ. – 2021. – Том 20, №1. – С. 7-23.

## KIDNEY DAMAGE IN COVID-19 INFECTION

**VYKHRYSTSENKA L.R., SCHASTLIVENKO A.I., BONDARAVA L.I., SIDARENKA A.V., MUZYKA O.G.**

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

Vestnik VGMU. 2021;20(1):7-23.

### Резюме.

При написании обзора были обобщены и сопоставлены опубликованные данные по патогенезу, клиническим проявлениям, лечению и реабилитации повреждений почек, вызванных инфекцией SARS-CoV-2 (Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2). Повреждение почек может возникать в результате вовлечения вируса SARS-CoV-2 в ренин-ангиотензин-альдостероновую систему (РААС), при развитии цитокинового шторма, ишемии, цепной легочно-почечной патогенетической реакции, гиперкоагуляции, рабдомиолиза. Поражение почек наблюдается при тяжелом течении COVID-19 в 25-50% случаев и проявляется протеинурией и гематурией, канальцевой дисфункцией, примерно в 15% случаев развивается острое повреждение почек (ОПП). Пациенты с возникшей ОПП, с хронической болезнью почек (ХБП) являются группой высокой летальности при развитии у них инфекции COVID-19. При повреждении почек, вызванном SARS-CoV-2, используют общие принципы лечения - симптоматическую и заместительную почечную терапию, осуществляют контроль назначения нефротоксических лекарственных средств. Требуется определение тактики диспансерного наблюдения пациентов с поражением почек COVID-19 (хроническая болезнь почек, острое повреждение почек или заместительная почечная терапия).

*Ключевые слова:* коронавирусная инфекция, COVID-19, острое повреждение почек, хроническая болезнь почек, ведение пациентов.

### Abstract.

When writing the review, the published data on the pathogenesis, clinical manifestations, treatment and rehabilitation of kidney damage caused by SARS-CoV-2 infection (Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2) were summarized and compared. Kidney damage can occur as a result of the involvement of the SARS-CoV-2 virus in the renin-angiotensin-aldosterone system (RAAS), on the development of a cytokine storm, ischemia, chain pulmonary-renal pathogenetic reaction, hypercoagulation, rhabdomyolysis. Kidney damage is observed in severe COVID-19 in 25-50% of cases and manifests itself by proteinuria and hematuria, tubular dysfunction, and acute kidney injury (AKI) develops in about 15% of cases. Patients with AKI and chronic kidney disease (CKD) are a high mortality group when they develop COVID-19 infection. In case of kidney damage caused by SARS-CoV-2, the general principles of treatment are used – symptomatic and renal replacement therapy, control over the administration of nephrotoxic drugs is exercised. It is required to determine the tactics of dispensary observation of patients with COVID-19 kidney disease (chronic kidney disease, acute kidney damage or renal replacement therapy).

*Key words:* coronavirus infection, COVID-19, acute kidney damage, chronic kidney disease, case management.

Инфекция, вызванная коронавирусом 2 (Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2, SARS-CoV-2), является системным заболеванием

с преимущественным поражением легких, сердца, почек, нервной системы. По текущим данным наблюдений острое повреждение почек (ОПП)

является 2-й по частоте причиной смертности пациентов с SARS-CoV-2 после острого респираторного дистресс-синдрома.

С целью обобщения и сопоставления данных по патогенезу, клиническим проявлениям, лечению и реабилитации повреждений почек, вызванных инфекцией SARS-CoV-2, нами проведен поиск статей в базе данных PubMedCenter, опубликованных в 2020 году, по ключевым словам «COVID-19», «повреждение почек», использованы также соответствующие данные с веб-сайтов. Информация предоставляется по состоянию на 22.12.2020 г.

### Эпидемиологические аспекты

Вирус SARS-CoV-2 (COVID-19) является высококонтагиозным, вирулентным и проявляет тропизм ко многим клеткам органов человека. Для проникновения в клетку вирус SARS-CoV-2 использует рецептор ангиотензинпревращающего фермента типа 2 (АПФ2), который высоко экспрессируется в почках. Через АПФ2-зависимый сигнальный путь SARS-CoV-2 может непосредственно инфицировать эпителий почечных канальцев и подоциты.

К предрасполагающим факторам поражения почек COVID-19 относят хроническую болезнь почек (ХБП), сердечно-сосудистую патологию, застойную сердечную недостаточность и, как следствие, развитие кардиоренального синдрома, наличие иммунодефицитных состояний, в том числе связанных с применением иммунодепрессантов и/или лучевой терапии, гиповолемию, прием нефротоксичных лекарственных средств и др. [1]. Как известно, наиболее частыми причинами развития ХБП являются сахарный диабет, гипертензия, ожирение, атеросклероз, пожилой возраст, которые также относятся к основным факторам риска инфицирования SARS-CoV-2, кроме того, их наличие осложняет клиническое течение и ухудшает исходы заболевания.

Потенциальные факторы риска острого повреждения почек (ОПП) при COVID-19 представлены в таблице 1.

Пациенты с ХБП являются группой высокой летальности при развитии у них инфекции COVID-19. Особую опасность тяжелого течения инфекции следует ожидать у пациентов с диабетической нефропатией, гипертонической нефропатией, у лиц, перенесших трансплантацию

почек, длительно получавших глюкокортикостероиды и иммунодепрессанты, в том числе при гломерулярных заболеваниях почек у пациентов, находящихся на диализе. По данным Республиканского Регистра, в Республике Беларусь смертность диализных пациентов с COVID-19 составила (на июль 2020 г.) 34,1% против 14,3% среди неинфицированных пациентов на гемодиализе в 2019 году (из доклада профессора В.С. Пилатовича на VI конгрессе ассоциации нефрологов новых независимых государств, 7-8 декабря 2020 г.).

Т. Oyelade et al. зарегистрировано развитие летальных случаев почти у каждого второго пациента с COVID-19 и ХБП [1]. По данным Z. Shahid et al. у 48% пациентов старше 70 лет с COVID-19-инфекцией сопутствующая патология была представлена ХБП, и доля таких пациентов была почти в два раза выше по сравнению с сахарным диабетом. Летальный исход у пациентов с COVID-19 без сопутствующих заболеваний составлял 1,4%, тогда как на фоне ХБП – 13,2%, что было сопоставимо с группой пациентов, имеющих сердечно-сосудистые заболевания [3]. В других исследованиях также было выявлено, что ХБП напрямую коррелирует с тяжестью клинического течения COVID-19 [4, 5].

У пациентов без предшествующего поражения почек на фоне коронавирусной инфекции возможно развитие как легких нарушений функции почек, так и ОПП. По данным Международного общества нефрологов (International Society of Nephrology (ISN)) поражение почек наблюдается при тяжелом течении COVID-19 в 25-50% случаев и проявляется протеинурией и гематурией, примерно в 15% случаев развивается острое повреждение почек [6].

По опубликованным данным в США [7] и в Италии [8] у пациентов, находившихся в критическом состоянии, ОПП отмечалась более чем в 20% случаев. В своих наблюдениях Н. Rabb отметил развитие ОПП у 5% госпитализированных пациентов в общей когорте и у 50% пациентов отделения реанимации [9].

### Патогенез развития поражения почек при COVID-19

Инфекция SARS-CoV-2 способна вызывать полиорганную дисфункцию в результате различных патологических процессов. Патофизиологические механизмы развития острого повреждения почек при COVID-19 остаются не до конца

Таблица 1 – Потенциальные факторы риска острого повреждения почек при COVID-19 (адаптировано из [2])

Демографические факторы риска	Факторы риска ОПП при поступлении	Факторы риска ОПП во время госпитализации
Пожилый возраст	Степень тяжести COVID-19	Нефротоксины (лекарства, рентгеноконтрастные вещества)
Сахарный диабет	Степень виремии	Вазопрессоры
Гипертония	Респираторный статус	Вентиляция, высокое положительное давление в конце выдоха
Сердечно-сосудистые заболевания или застойная сердечная недостаточность	Поражение недыхательных органов, например, диарея	Перегрузка жидкостью или гиповолемия
Высокий индекс массы тела	Лейкоцитоз, лимфопения	
Хроническое заболевание почек	Повышенные маркеры воспаления (ферритин, С-реактивный белок, D-димеры)	
Генетические факторы риска (например, аполипопротеин 1 генотип; АПФ2 полиморфизм)	Гиповолемия / обезвоживание	
Иммуносупрессивное состояние	Рабдомиолиз	
История курения	Воздействие лекарств, например, ингибиторов АПФ и/или блокаторов рецепторов ангиотензина, статинов, нестероидных противовоспалительных лекарственных средств	

изученными. Повреждение почек может возникать в результате вовлечения вируса SARS-CoV-2 в ренин-ангиотензин-альдостероновую систему (РААС), при развитии цитокинового шторма, прямого цитотоксического действия вируса, ишемии, цепной легочно-почечной патогенетической реакции, гиперкоагуляции, рабдомиолиза.

Ренин-ангиотензин-альдостероновая система представляет собой сложный каскад вазоактивных пептидов, которые управляют ключевыми процессами в физиологии человека. SARS-CoV и SARS-CoV-2 вовлекаются в РААС через рецептор АПФ2, который физиологически противодействует активации РААС [10, 11]. Рецептор АПФ2 представляет собой трансмембранный белок I типа. Он экспрессируется не только в верхних и нижних дыхательных путях, но и в сердце, кишечнике, почках, хотя с меньшей интенсивностью [12]. Распространенность почечных поражений более свойственна для SARS-CoV-2. Это связано с тем, что рецепторы АПФ2 служат местом проникновения SARS-CoV-2 в клетки организма

вследствие схожести S-белка коронавируса с ангиотензинпревращающим ферментом 2 – карбоксипептидазой, которая является гомологом АПФ, но ее активность не подавляется ингибиторами АПФ. Рецепторы к АПФ2 представлены в подочитах, мезангиальных клетках, париетальном эпителии капсулы Боумена, клетках проксимальных канальцев и собирательных трубочек, что делает почки одними из основных органов-мишеней для COVID-19 [10]. SARS-CoV-2 для инвазии в клетку использует и другие рецепторы – трансмембранный гликопротеин CD147, трансмембранную сериновую протеазу типа 2 – кофактор активации S-белка вируса.

В РААС ангиотензин I превращается в ангиотензин II под действием ангиотензинпревращающего фермента. Ангиотензин II запускает сосудосуживающие и провоспалительные эффекты через рецептор ангиотензина II 1 типа. АПФ2 преобразует ангиотензин I в ангиотензин 1-9, который далее может быть преобразован с помощью АПФ в ангиотензин 1-7. С другой стороны, АПФ2 пре-

вращает ангиотензин II в ангиотензин 1-7, который связывается с рецептором Mas. Рецептор Mas по своей физиологической роли является антагонистом системы АПФ, что обеспечивает снижение артериального давления, возникновение вазодилатации и противовоспалительных эффектов, увеличение почечного кровотока, скорости клубочковой фильтрации и диуреза (рис. 1).

Связывание SARS-Cov-2 с рецептором АПФ2 и проникновение вируса в клетку приводят к подавлению экспрессии поверхностного АПФ2, беспрепятственному накоплению и активности ангиотензина II и возникновению провоспалительного каскада с увеличением нейтрофильной инфильтрации органов, продукции провоспалительных цитокинов, повышению проницаемости сосудов с повреждением органов-мишеней [14, 15].

При COVID-19 выявлено также значительное увеличение концентрации брадикинина – пептида, участвующего в регуляции сосудистого тонуса, водно-солевого обмена, увеличивающего проницаемость сосудов и концентрацию тканевого активатора плазминогена, что может вызывать критические осложнения [16].

Цитокиновый шторм – это вариант развития тяжёлого системного воспалительного ответа,

при котором возникает массовое привлечение иммунных клеток к поврежденному вирусом органу с участием врожденной (макрофаги, система комплемента, С-реактивный белок и др.) и адаптивной (Т- и В-лимфоциты) систем иммунитета, и высвобождением большого количества провоспалительных цитокинов – интерлейкина (IL) -6, IL-8, фактора некроза опухоли- $\alpha$ , хемотаксического белка моноцитов-1, макрофагального воспалительного белка-1A [17]. Острая фаза болезни характеризуется лейкоцитозом, лимфопенией, повышением лактатдегидрогеназы, ферритина, D-димера. В некоторых случаях возникает отсроченный и стойкий цитокиновый ответ, приводящий к иммунному повреждению не только легких, но и почек [18].

Вирусный тропизм. Прямое цитотоксическое действие SARS-Cov-2 на клетки почек может быть причиной фокального сегментарного гломерулосклероза, острого канальцевого некроза. Было высказано предположение о возникновении повреждения клубочков и развитии коллатоидной гломерулопатии – коллапсирующего фокального сегментарного гломерулосклероза у пациентов с дисфункциональным белком APO1 (apolipoprotein 1 – минорный аполипопротеин плазмы крови) [19].

Ишемия. Септический шок, вызванный

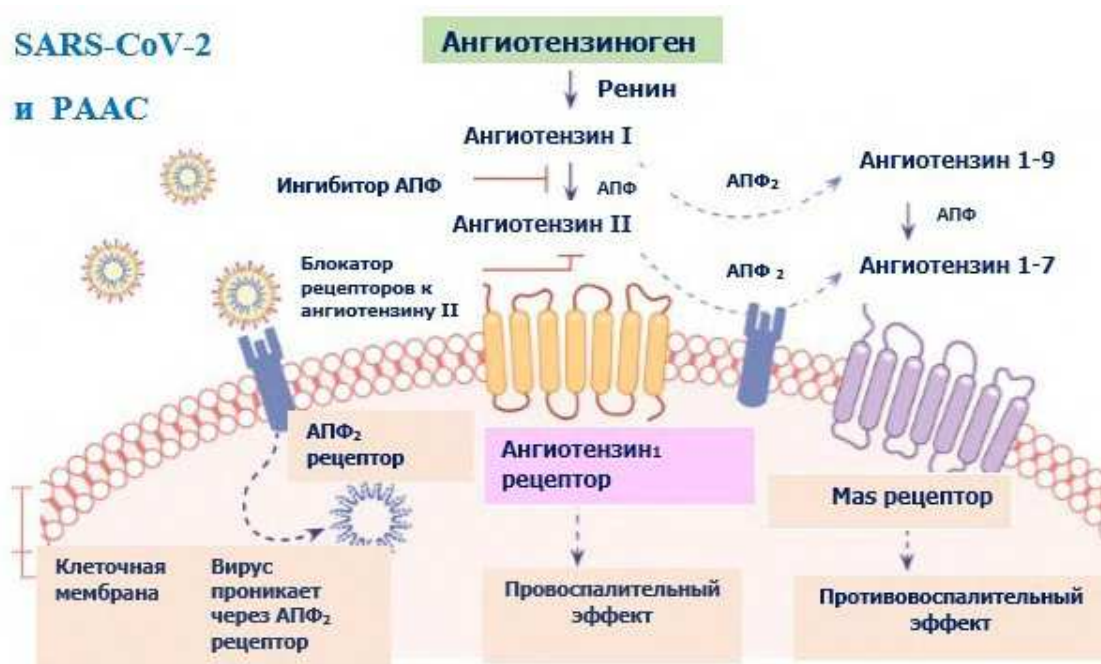


Рисунок 1 – Связь между SARS-Cov-2 и ренин-ангиотензин-альдостероновой системой (адаптировано из [13]):

РААС – ренин-ангиотензин-альдостероновая система, АПФ – ангиотензинпревращающий фермент,

АПФ<sub>2</sub> – ангиотензинпревращающий фермент типа 2.

SARS-CoV-2, может вызывать ишемию и гипоксию почек из-за снижения перфузии крови и высокого уровня ангиотензина II в кровотоке, что ещё больше снижает почечный кровоток и усугубляет ишемию [20].

Цепная легочно-почечная патогенетическая реакция основана на сходстве этих органов. Поражение одного органа может иметь негативные последствия для другого. Дыхательная недостаточность может вызвать повреждение почек и развитие ОПП из-за системной гипоксии, гиперкапнии, повышения уровня ангиотензина II, привлечения иммунных клеток, повышения проницаемости сосудов и их констрикции, активации тромбоцитов и эндотелия [21]. Известно, что искусственная вентиляция лёгких связана с трёхкратным увеличением риска развития ОПП у пациентов в критическом состоянии из-за возможного развития баротравмы и высвобождения большого количества провоспалительных цитокинов [22].

Гиперкоагуляция. У пациентов, страдающих COVID-19-инфекцией, отмечается значительное повышение уровня D-димеров. Микро-тромбоз потенциально может играть важную роль в патогенезе органной дисфункции при SARS-CoV-2. Микро-тромбоз может возникать на уровне мелких артерий в лёгких и в петлях клубочковых капилляров [23]. Высокая распространенность тромбоэмболии легочной артерии с последующей недостаточностью правых отделов сердца также может способствовать развитию острого повреждения почек [24].

Рабдомиолиз – клинический и лабораторный синдром, характеризующийся повреждением скелетных мышц с повышением уровня креатинкиназы и миоглобина в сыворотке крови и моче. Рабдомиолиз можно рассматривать как потенциальную этиологию развития ОПП [25].

### **Патологоанатомические аспекты поражения почек при коронавирусной инфекции**

Несмотря на то, что основные проявления инфекции COVID-19 связаны с респираторным трактом, накапливаются данные о высокой тропности вируса к клеткам почек. При световой микроскопии препаратов почек пациентов, умерших от COVID-19, было обнаружено повышенное накопление антигенов SARS-CoV-2 в эпителиальных клетках канальцев почек. При электронной микроскопии вирусные частицы SARS-CoV-2 локализовались в эпителии проксимальных каналь-

цев и подоцитах. Отмечена утрата малых ножек подоцитов, вакуолизация цитоплазмы клеток и отрыв подоцитов от базальной мембраны клубочков [26].

Предположительно, вирус выявляется в эндотелиальных клетках, вызывая эндотелиит в почках и в других органах. Повреждение эндотелия почек является фактором, способствующим развитию ОПП [27].

Редким вариантом поражения почек при SARS-CoV-2 является коллаптоидная гломерулопатия [28, 29]. Она характеризуется сегментарным или глобальным коллапсом капилляров клубочков с гипертрофией и гиперплазией подоцитов (рис. 2). Возможность коллаптоидной гломерулопатии увеличивается при наличии ряда сопутствующих патологий (хронические вирусные инфекции, системные заболевания, новообразования) и сопровождается развитием гиалиновых тромбов в просвете капилляров клубочков, некроза эпителия канальцев, дилатацией просвета канальцев (рис. 3).

Морфологически при ОПП выявляли потерю щеточной каемки эпителиальных клеток канальцев, некроз нефронов извитых канальцев, инфаркт почки (рис. 4).

Таким образом, патологоанатомические данные свидетельствуют о серьезном повреждении почек SARS-CoV-2.

### **Диагностика повреждений почек при инфицировании SARS-CoV-2**

Клинические признаки. Симптомами острого поражения здоровых почек при COVID-19 являются изменение количества и цвета мочи, боли в области поясницы и/или живота, появление отеков, чаще в области лица, рук, голеней. Одновременно наблюдаются лихорадка, симптомы, вызванные интоксикацией (головная боль, слабость, быстрая утомляемость, боли в мышцах), потеря вкусовых ощущений, обоняния и др. неврологическая симптоматика, симптомы поражения легких (кашель, одышка).

Важной является информация о предшествующих изменениях анализов мочи, показателей креатинина сыворотки крови пациентов, однако она может быть недоступна или отсутствовать.

Протеинурия, гематурия. У значительной части пациентов в критическом состоянии и/или с ОПП наблюдались гематурия и протеинурия



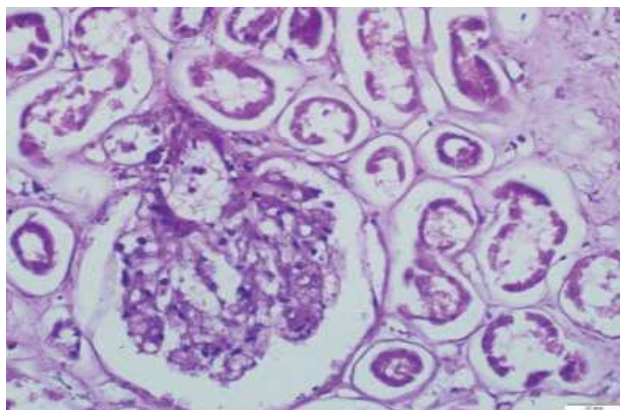


Рисунок 2 – Коллаптоидная гломерулопатия с коллапсом капиллярных петель клубочка при COVID-19. Окраска гематоксилином и эозином [30].

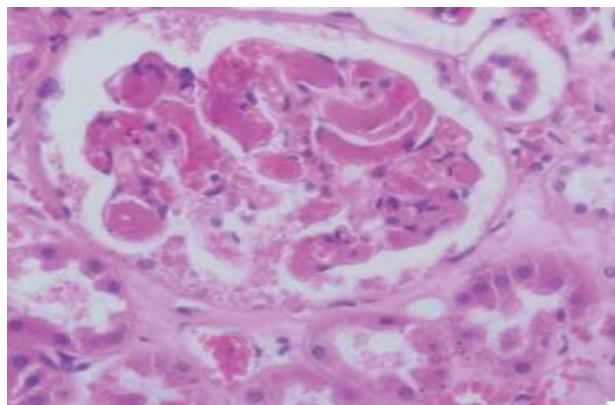


Рисунок 3 – Гиалиновые тромбы в капиллярных петлях клубочка при COVID-19. Окраска гематоксилином и эозином [30].



Рисунок 4 – Макроскопические изменения почки при COVID-19 (шоковая почка) [30].

[31-34]. По данным нескольких наблюдений у пациентов с инфекцией SARS-CoV-2 в 7-63% случаев выявляется протеинурия [31, 35], в 20-48% случаев – гематурия [31, 36].

В некоторых медицинских центрах у трети пациентов развивалась массивная альбуминурия/протеинурия, характерная для гломерулярной недостаточности. Сообщается о 2-х случаях массивной протеинурии, связанной с тяжелым ОПП и гистологической коллапсирующей гломерулопатией у 2-х чернокожих пациентов, госпитализированных с инфекцией SARS-CoV-2 [28, 29].

Показано, что при проведении интенсивной терапии купирование протеинурии и гематурии возможно, но не ранее чем через 3 недели от начала заболевания [32]. В нескольких исследованиях выявлено, что протеинурия и гематурия

были тесно связаны с повышенной госпитальной летальностью [23, 31].

**Канальцевая дисфункция.** Повышенные калийурез и гипокалиемия часто связаны с наиболее тяжелыми формами инфекции SARS-CoV-2. Они могут быть вторичными по отношению к диарее, применению диуретиков или другим лекарственным тубулопатиям.

У пациентов с инфекцией SARS-CoV-2 возможно развитие дисфункции проксимальных канальцев, которая характеризуется низкомолекулярной протеинурией, гипофосфатемией, гипоурикемией, нейтральной аминоацидурией, причем поражение развивается вне зависимости от ранее существовавшего заболевания почек, клубочковой протеинурии, вирусной нагрузки или токсичных лекарств. Гипоурикемия была

связана с тяжестью заболевания и повышением риска дыхательной недостаточности, требующей инвазивной механической вентиляции [37].

Острое повреждение почек при COVID-19 признано частым осложнением COVID-19. Анализ литературных данных свидетельствует, что у 20-30% пациентов, госпитализированных с COVID-19, развивается ОПП, а в отделении интенсивной терапии более чем у 50% пациентов [2].

Для верификации ОПП при COVID-19 рекомендуется использовать критерии KDIGO (Kidney Disease Improving Global Outcomes), включая определение уровня креатинина в сыворотке и диурез (уровень доказательности: 1A) [38]. ОПП определяется как повышение уровня сывороточного креатинина  $>0,3$  мг/дл ( $>26,5$  мкмоль/л) в течение 48 часов; или повышение креатинина до  $>1,5$  раза по сравнению с исходным (если это известно или предполагается, что это произошло в течение предшествующих 7 дней); или объем мочи  $<0,5$  мл/кг/час за 6 часов.

Результаты исследований функции почек при COVID-19 демонстрируют значительную вариабельность показателей. Сообщается о повышении уровня креатинина у 1,6% (12 из 752) человек [39], инфицированных SARS-CoV-2, о развитии ОПП в 5,1% случаев (36 из 701) [31], или о кратковременной азотемии без развития острой почечной недостаточности у 116 пациентов [35]. В другом исследовании наблюдали повышенный уровень мочевины в плазме крови у 31% (60/193) пациентов, у 22% (43/193) – повышенный уровень креатинина в сыворотке [36].

Изучалась временная взаимосвязь между началом или тяжестью инфекции SARS-CoV-2 и развитием ОПП. Сообщалось, что примерно у одной трети пациентов с COVID-19 ОПП возникло или развилось в течение 24 часов после обращения [40], тогда как по другим данным – через 15 дней с момента обращения [12].

ОПП может возникать одновременно с началом искусственной вентиляции легких [40]. В исследовании российских авторов показано, что длительность искусственной вентиляции легких оказалась значимым предиктором развития ОПП (6,1 против 1,7 дней при нормальной функции почек). Так, число пациентов, которым проводили искусственную вентиляцию легких или экстракорпоральную мембранную оксигенацию в течение 5 и более дней, составляло 43% при ОПП против 10% при нормальной функции почек [41].

Исследование, в котором были доступны базовые измерения уровня креатинина в сыворотке крови, показало, что у 35% пациентов ОПП развивалась на фоне ХБП [33]. Современные данные указывают на то, что повышение уровня креатинина в сыворотке крови является фактором риска неблагоприятного исхода независимо от того, развилось ли ОПП вследствие перенесенного ранее заболевания почек или острого повреждения. Так, на основании изучения клинических и морфологических проявлений почечной патологии у 220 пациентов, умерших от COVID-19, показано, что частота ОПП не различалась в зависимости от исходной функции почек, составляя 66% при ХБП и 61% при исходно нормальной функции почек [41]. В другом исследовании не было получено достоверного изменения динамики скорости клубочковой фильтрации на протяжении всего срока лечения вирусной пневмонии у пациентов с наличием ХБП и без нее [35]. Таким образом, влияние ХБП на частоту развития ОПП и исходы требует дальнейших углубленных исследований.

Прогрессирующее течение ОПП вплоть до заместительной почечной терапии чаще отмечалось у пациентов, имеющих высокие уровни тканевого ингибитора металлопротеиназ-2 и белка-7, связывающего инсулиноподобный фактор роста, а повышенный уровень альфа1-микроглобулина в моче у госпитализированных пациентов был связан с последующим развитием ОПП [34].

A. Werion et al. сообщают, что острый некроз канальцев является наиболее частым патологическим изменением, наблюдаемым у пациентов COVID-19 с ОПП. Помимо увеличения уровня  $\beta$ 2-микроглобулина или альбумина в моче, у 46% пациентов обнаруживают аминокацидурию [37].

Во время ОПП у двух третей пациентов определялись низкие концентрации натрия в моче, у большинства из них развивалась олигурия [33, 40].

Гиперкалиемия наблюдалась у 23% пациентов с ОПП COVID-19 и была часто связана с метаболическим ацидозом [33, 42].

Рабдомиолиз встречался у 7–20% пациентов с признаками COVID-19 ОПП [32, 33].

У пациентов с ОПП COVID-19 отмечены более высокие уровни системных маркеров воспаления (ферритина, С-реактивного белка, прокальцитонина, лактатдегидрогеназы, Д-димера), чем у пациентов с COVID-19 и нормальной функцией почек [33, 36, 40].

С целью уточнения характера поврежде-



ния почек при ОПП (гломерулопатии, поражение канальцев, микроангиопатии с микротромбозом) в сложных диагностических случаях возможно проведение прижизненной биопсии почки. Однако ее проведение может быть затруднено вследствие искусственной вентиляции легких, терапии антикоагулянтами, связано с наличием риска передачи вируса.

Компьютерная томография почек при ОПП выявляла снижение плотности, что свидетельствовало о воспалении и отеке.

В таблице 2 представлены гистопатологические и клинические характеристики ОПП у

пациентов с COVID-19 в сопоставлении с предполагаемым патогенезом.

### Принципы терапии патологии почек при коронавирусной инфекции

COVID-19-инфекция при ХБП. Приводим рекомендации Международного общества нефрологов по ведению пациентов в период пандемии COVID-19 [6].

Поскольку социальное дистанцирование является важной мерой защиты от заболевания COVID-19, для мониторинга состояния пациен-

Таблица 2 – Гистопатологические и клинические характеристики острого повреждения почек у пациентов с COVID-19 и возможный патогенез (адаптировано из [43])

Патология	Гистологические изменения	Патогенез	Клинические проявления
Острый тубулярный некроз	<ul style="list-style-type: none"> <li>Расширение просвета канальцев клеточными обломками</li> <li>Изменения мембран щеточной каймы проксимальных канальцев</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>«Цитокиновая буря» и гемодинамическая нестабильность</li> <li>Экспрессия АПФ2 в проксимальных канальцах увеличивает проникновение COVID-19</li> <li>CD147, возможно, опосредует базолатеральное проникновение COVID-19</li> <li>Активация мембраноатакующего комплекса в канальцах почек</li> </ul>	Снижение СКФ Протеинурия
Острый интерстициальный нефрит	<ul style="list-style-type: none"> <li>Инфильтрация интерстиции мононуклеарными клетками</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Сверхэкспрессия STAT1 и IRF3</li> <li>Макрофаги с CXCL-10 +/-CCL2 + индуцируют высвобождение цитокинов</li> </ul>	Снижение СКФ
Подоцитопатия	<ul style="list-style-type: none"> <li>Сглаживание подоцитов</li> <li>Коллапс клубочков</li> <li>Псевдосерповидный узор клубочка</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Носители аполипопротеин 1 подвержены коллапсирующей гломерулопатии</li> <li>Повышенная экспрессия CD147/Vsg в поврежденном подоците усиливает дальнейшее проникновение вируса в подоцит</li> </ul>	Протеинурия
Тромботическая микроангиопатия	Микротромбы в клубочках	<ul style="list-style-type: none"> <li>Антикардиолипиноподобное антитело рекрутирует нейтрофильную агрегацию</li> <li>Предрасполагающая активация РААС снижает АПФ2 и усиливает гиперкоагулопатию</li> <li>Активация мембраноатакующего комплекса в эндотелии</li> </ul>	Снижение СКФ при гематурии

Примечания: АПФ2 – ангиотензинпревращающий фермент 2 типа, СКФ – скорость клубочковой фильтрации, STAT1 (Signal Transducer and Activator of Transcription 1) – преобразователь сигнала и активатор транскрипции 1; IRF3 (Interferon Regulatory Factor 3) – регуляторный фактор интерферона 3; CXCL-10 – хемокиновый лиганд 10 с C-X-C мотивом; CCL2 (C-C Motif Chemokine Ligand 2) – цитокин группы CC-хемокинов; CD147/Basigin (Extracellular Matrix Metalloproteinase Inducer/Basigin) – индуктор внеклеточной матричной металлопротеиназы, РААС – ренин-ангиотензин-альдостероновая система.

тов рекомендуется использовать телемедицину и разработанные стандартные рекомендации. Необходимо ограничить забор крови и мочи на анализы в условиях лабораторий.

Следует проводить эмпирическое лечение (без нефробиопсии) иммуносупрессантами и глюкокортикостероидами при высокой вероятности быстро прогрессирующего гломерулонефрита (при системной красной волчанке, васкулите, ассоциированном с антинейтрофильными цитоплазматическими аутоантителами (АНЦА-васкулите) или васкулите с наличием антител к гломерулярной базальной мембране. Напротив, не следует начинать иммуносупрессивную терапию при минимальных симптомах гломерулонефрита и стабильной расчетной скорости клубочковой фильтрации.

Прием антиметаболитов у пациентов с подозрением или подтвержденной инфекцией COVID-19 следует прекратить или снизить их дозу. Рассматривается также возможность прекращения приема антиметаболитов при устойчивой ремиссии гломерулярного заболевания (более 12 месяцев). При тяжелом течении COVID-19 снижают дозу ингибиторов кальциневрина, проводят замену внутривенного введения иммуносупрессантов пероральным.

Рекомендовано продолжить применение ингибиторов АПФ, использование по показаниям антибиотикопрофилактики, проведение плановой вакцинации от гриппа и пневмококка для предотвращения вторичной или коинфекции,

Острое повреждение почек при COVID-19. При лечении ОПП у пациентов с инфекцией SARS-CoV-2 используют общие принципы терапии в рамках Клинических практических рекомендаций по ОПП (KDIGO) [38] и рекомендаций Международного общества нефрологов [6]. Специфического лечения ОПП при инфекции SARS-CoV-2 не существует. Лечение включает применение симптоматических лекарственных средств и заместительную почечную терапию. Возможные стратегии лечения ОПП COVID-19 согласно текущим международным рекомендациям представлены в таблице 3.

Следует избегать применения нефротоксических препаратов, проводить регулярный контроль сывороточного креатинина и диуреза, рассмотреть возможность мониторинга гемодинамических показателей.

Недавние клинические исследования свидетельствуют об отсутствии взаимосвязи между ингибиторами РААС (ингибиторами АПФ и бло-

каторами рецепторов к ангиотензину II) и риском инфицирования COVID-19 или смертности [6, 44].

Всемирной организацией здравоохранения одобрены результаты исследования относительно использования дексаметазона у пациентов с COVID-19. Исследование включало 2104 пациента, которые были распределены случайным образом для приема 6 мг дексаметазона в день на срок до 10 дней по сравнению со стандартной терапией. Использование дексаметазона снижало 28-дневную смертность среди пациентов с тяжелым заболеванием, при этом максимальный эффект наблюдался у пациентов, получавших инвазивную механическую вентиляцию легких или только кислородную терапию. Не сообщалось о влиянии глюкокортикостероидов на функцию почек [45].

Рекомендации по применению глюкокортикостероидов при инфекции COVID-19 изложены в республиканских временных рекомендациях (алгоритмы) оказания медицинской помощи [46].

Схема заместительной терапии для пациентов с тяжелым острым повреждением почек при COVID-19 представлена на рисунке 5.

Международным обществом нефрологов предложена стратегия снижения риска передачи SARS-CoV-2 среди пациентов, получающих поддерживающий диализ. На стадии разработки находятся этические руководящие принципы для поддержки распределения ресурсов диализа, предложена инициатива по сбору данных пациентов с поражением почек COVID-19 (ХБП, ОПП или заместительная почечная терапия).

Течение и исходы острого повреждения почек при инфекции SARS-CoV-2. Пациенты с ОПП при COVID-19 имеют более высокий уровень смертности. Смертность в стационаре была значительно выше у пациентов с протеинурией, гематурией, повышенным исходным уровнем креатинина сыворотки крови и мочевины, при 2-3 стадиях ОПП [31, 32]. Сообщается, что смертность от ОПП составила от 35% до 80%, а среди пациентов, которым потребовалась заместительная почечная терапия, достигла 75-90%, что явилось независимым фактором риска смерти в стационаре от всех причин у пациентов с COVID-19 [31-33].

Продолжительность ОПП COVID-19 до настоящего времени плохо изучена. Лишь в одном исследовании сообщалось о полном восстановлении функции почек [32]. Отдаленные последствия поражения почек у пациентов, выживших после перенесенной инфекции, неизвестны.

Таблица 3 – Возможные стратегии лечения ОПП при инфекции SARS-CoV-2 [адапировано из [2]]

Терапия	Обоснование	Рекомендация
<i>Стандартные меры</i>		
Стандартные меры, основанные на риске и стадии ОПП	Профилактика и лечение зависят от риска и стадии ОПП	Стратегии, основанные на KDIGO и других соответствующих рекомендациях, подходят для профилактики и лечения COVID-19 ОПП на основе риска и стадии
Исследование функции почек	Исследование функции почек необходимо для точной клинической оценки риска и стадии ОПП. Креатинин сыворотки и диурез являются текущими «золотыми стандартами» для оценки функции почек, хотя ни один из них не является специфическим для почек или чувствительным для выявления раннего повреждения почек	Контролировать функцию почек с использованием минимального уровня креатинина сыворотки и диуреза с тщательным учетом ограничений обоих (уровень доказательности 1B)
Оптимизация гемодинамики	У пациентов с COVID-19 могут возникать гиповолемия, гипотензия и вазоплегия. Введение жидкости и вазопрессоров с использованием динамической оценки сердечно-сосудистого статуса может снизить риск повреждения почек и дыхательной недостаточности	Индивидуальный подбор дозы и режима введения инфузионных растворов и вазопрессоров (уровень доказательности 1B)
Инфузионная терапия	Важны состав кристаллоидов. Отдельные испытания на пациентах без COVID-19 показали снижение риска ОПП при использовании сбалансированных жидкостей для начального увеличения объема, особенно при сепсисе	Использовать сбалансированные кристаллоиды в качестве начального лечения для увеличения внутрисосудистого объема у пациентов с риском COVID-19 ОПП или с COVID-19 ОПП, если нет показаний для других жидкостей (уровень доказательности 1A)
Контроль уровня глюкозы	Инсулинорезистентность и гиперкатаболическое состояние часто встречаются при COVID-19 и способствуют гипергликемии	Мониторинг гипергликемии и использование интенсивных стратегий снижения уровня глюкозы у пациентов из группы высокого риска (уровень доказательности 2C)
Контроль за назначением нефротоксических лекарственных средств	Риски и преимущества этих лекарств и их альтернатив необходимо тщательно и часто оценивать	Ограничить воздействие нефротоксических препаратов, где это возможно, проводить тщательный мониторинг, когда их использование необходимо (уровень доказательности 1B)
Использование контрастных веществ	Бикарбонат натрия и N-ацетилцистеин не предотвращают ОПП, ассоциированную с контрастным веществом	Оптимизация статуса внутрисосудистого объема как единственное специфическое вмешательство для предотвращения ОПП, связанной с контрастным веществом (уровень доказательности 1A)
<i>Экспериментальные стратегии</i>		
Противовирусные препараты	Некоторые данные свидетельствуют о том, что прямая вирусная инфильтрация канальцевых клеток и подоцитов влияет на функцию канальцев и клубочковую фильтрацию	Доказательства того, что противовирусные препараты могут снизить риск ОПП COVID-19, косвенные и ограниченные

Продолжение табл. 3

Терапия	Обоснование	Рекомендация
Иммуномодуляторы (например, гидроксихлорохин, кортикостероиды, тоцилизумаб, сарилумаб, анакинра, иматиниб, дазатиниб, циклоспорин, иммуноглобулины, барицитиниб)	Инфекция SARS-CoV-2 может вызвать высвобождение провоспалительных цитокинов. Иммуномодулирующие средства могут ослаблять продукцию цитокинов или блокировать активацию рецепторов цитокинов, ингибировать аутофагию и лизосомальную активность	Нет данных, демонстрирующих влияние иммуномодуляторов на развитие или прогрессирование ОПП
Системная антикоагуляция	Тромбы в почечной микроциркуляции могут способствовать развитию ОПП	Нет данных, показывающих, что стратегии антикоагуляции снижают риск ОПП или смягчают прогрессирование ОПП. Системная антикоагуляция может потребоваться для поддержания проходимости фильтра во время заместительной почечной терапии
Статины	Статины подавляют выработку провоспалительных цитокинов (например, фактора некроза опухоли, IL-10, IL-6 и IL-8), а также активацию и пролиферацию Т-клеток	Нет данных, демонстрирующих, что статины снижают риск ОПП или смягчают прогрессирование
Ингибиторы АПФ и/или блокаторы рецепторов ангиотензина II	Ингибиторы АПФ и блокаторы рецепторов ангиотензина II повышают уровень экспрессии АПФ2	Влияние ингибиторов РААС на развитие или профилактику ОПП COVID-19 не определено
Нестероидные противовоспалительные лекарственные средства	Противовоспалительные свойства	Эффект неизвестен
Рекомбинантный АПФ2	Возможность нейтрализовать SARS-CoV-2 и спасти клеточную активность АПФ2	Изучается
Сериновые ингибиторы	Блокировка активности трансмембранной протеазы серина 2 и предотвращение вирусной инфильтрации	Изучается

### Реабилитация и диспансерное наблюдение пациентов после перенесенной инфекции SARS-CoV-2

Период наблюдения за реконвалесцентными пациентами после инфекции COVID-19 с целью первичной и вторичной профилактики ХБП должен составлять не менее трех лет.

Единого мнения относительно тактики диспансерного наблюдения за пациентами, перенесшими инфекции COVID-19, в настоящее время нет. План обследования пациента, перенесшего инфекцию COVID-19, как и в случае ОПП другой этиологии, должен включать:

1. Определение концентрации сывороточного креатинина с расчетом скорости клубочковой фильтрации по уравнению CKD-EPI (2011), разработанному Сотрудничеством по эпидемиологии ХБП, определение мочевины, мочевой кислоты, общего белка, электролитов, глюкозы, билирубина, аланинаминотрансферазы – 1 раз в месяц в течение 3 месяцев, затем 1 раз в год в течение 3 лет.

2. Контроль общего анализа крови и общего анализа мочи 1 раз в месяц в течение 3 месяцев, затем 1 раз в год в течение 3 лет.

3. Контроль суточной альбуминурии/протеинурии (или соотношения альбумин/креати-

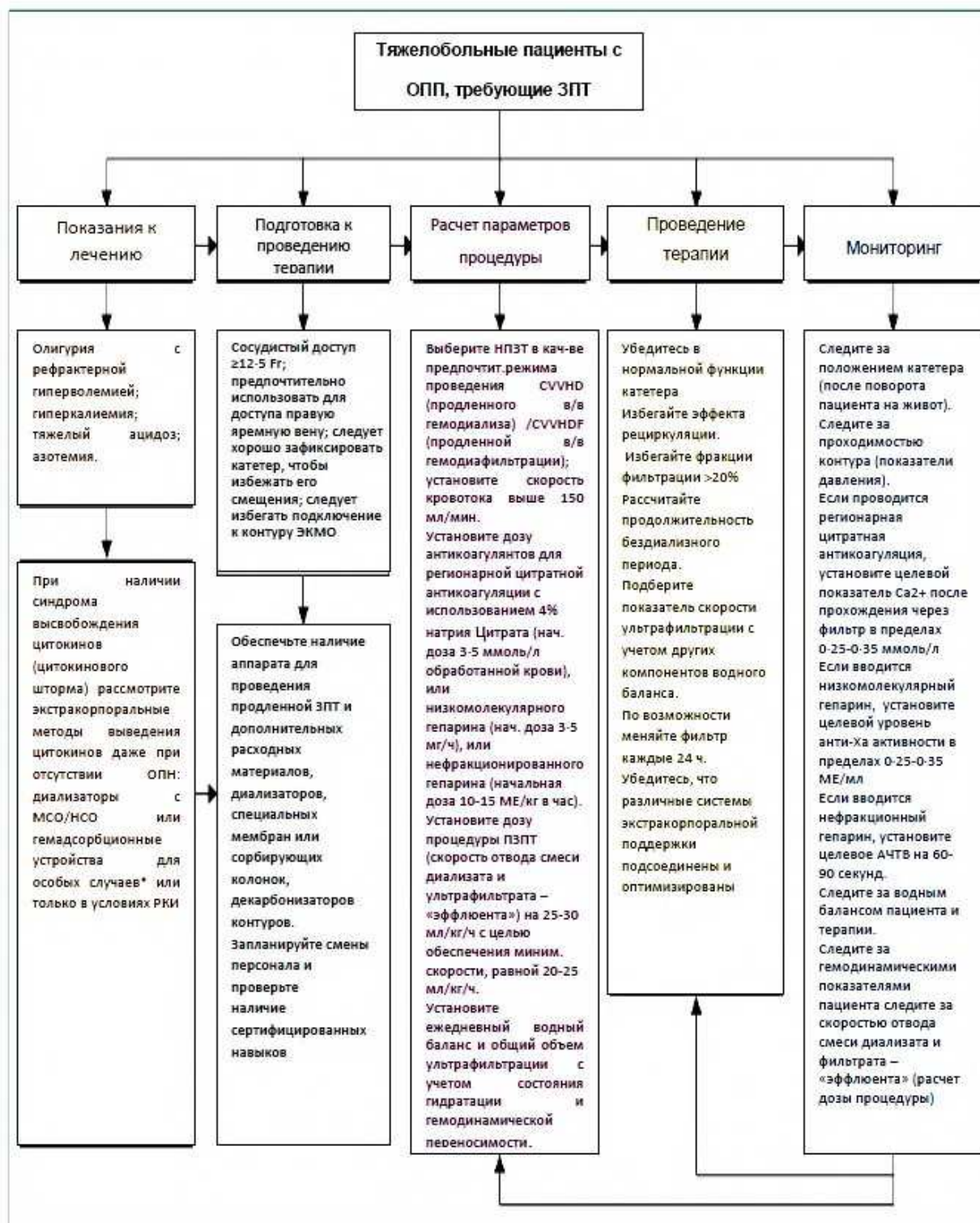


Рисунок 5 – Лечение острого повреждения почек, требующего заместительной терапии у пациентов с COVID-19 (адаптировано из [47]): Анти-Ха – антифактор Ха; АЧТВ – активированное частичное тромбопластиновое время; ЗПТ – заместительная почечная терапия; НЗПТ – непрерывная заместительная почечная терапия; ОПП – острое повреждение почек; ПЗПТ – продленная заместительная почечная терапия; РКИ – рандомизированные контролируемые исследования; ЭКМО – экстракорпоральная мембранная оксигенация;  $\text{Ca}^{2+}$  – ионизированный кальций; CVVHD – продленный вено-венозный гемодиализ; HCO (high cut-off membranes) – сверхпроницаемые мембраны; MCO (middle cut-off membranes) – высокопроницаемые мембраны с хорошей отсежкой средних молекул.

нин, протеин/креатинин в разовой порции мочи) 1 раз в месяц в течение 3 месяцев, затем 1 раз в год в течение 3 лет.

4. Анализ мочи по Зимницкому 1 раз в год.

5. ЭКГ 1 раз в год.

6. Ультразвуковое исследование почек 1 раз в год.

7. Сцинтиграфия почек по показаниям.

8. Консультация нефролога, других врачей-специалистов по показаниям.

Отсутствие полного восстановления функции почек после инфекции COVID-19 является важным фактором риска развития и прогрессирования ХБП вплоть до формирования терминальной стадии и необходимости заместительной почечной терапии. Любая лекарственная терапия пациентам, перенесшим инфекцию COVID-19, должна назначаться с учетом возможной нефротоксичности препаратов.

У пациентов с оптимальным уровнем суточной альбуминурии (менее 25 мг/сут) целевые уровни артериального давления составляют: систолическое артериальное давление менее 140 и диастолическое – менее 90 мм рт.ст. При высокой степени альбуминурии/протеинурии рекомендовано достижение более низких целевых уровней давления (снижение систолического менее 120 мм рт.ст. не рекомендовано). В качестве лекарственных средств первой линии следует назначать ингибиторы АПФ или блокаторы рецепторов ангиотензина II, если их применение не противопоказано [48].

Пациентам, перенесшим инфекцию COVID-19, рекомендуется отказ от курения, употребления алкоголя, нормализация массы тела (индекс массы тела менее 26,5 кг/м<sup>2</sup> для мужчин и менее 25,0 кг/м<sup>2</sup> для женщин), ограничение потребления поваренной соли до 6,0 г в сутки.

Профилактические мероприятия, проводимые в течение всего периода диспансерного наблюдения пациентов после инфекции COVID-19, направлены на контроль модифицируемых факторов риска развития и прогрессирования ХБП и ассоциированных состояний (табл. 4).

### Заключение

У пациентов с инфекцией SARS-CoV-2 распространенность повреждения почек высока и обычно приводит к плохому прогнозу, что повышает значимость нефропротекции. В соответствии с полученными новыми данными ХБП или перенесенное ОПП, впервые диагностированное во время госпитализации, должны быть признаны факторами риска тяжелой формы COVID-19. При повреждении почек, вызванном SARS-CoV-2, используют общие принципы лечения – симптоматическую и заместительную почечную терапию, осуществляют контроль назначения нефротоксических лекарственных средств.

Дальнейшие научные исследования рекомендуют направлять на изучение факторов риска развития тяжелого ОПП при коронавирусной инфекции, оценку новых биомаркеров для

Таблица 4 – Факторы риска и ассоциированные состояния при остром повреждении почек [49]

Немодифицируемые факторы риска	Модифицируемые факторы риска
<ul style="list-style-type: none"> <li>Возраст <math>\geq 65</math> лет.</li> <li>Мужской пол (при кардиохирургических вмешательствах и рентгеноконтрастных процедурах – женский пол).</li> <li>Черная раса.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Ятрогенная гипоперфузия почек.</li> <li>Неконтролируемая низконатриевая диета (гиповолемия).</li> <li>Прием мочегонных на фоне низконатриевой диеты.</li> <li>Артериальная гипотензия.</li> <li>Ингибиторы ангиотензинпревращающего фермента, блокаторы рецепторов ангиотензина II.</li> <li>Нестероидные противовоспалительные лекарственные средства.</li> <li>Комбинация вышеуказанных лекарственных средств.</li> </ul>
Ассоциированные состояния	
<ul style="list-style-type: none"> <li>Хроническая болезнь почек.</li> <li>Анемия.</li> <li>Сахарный диабет (диабетическая нефропатия).</li> <li>Артериальная гипертензия (гипертензивный нефросклероз).</li> <li>Застойная сердечная недостаточность.</li> <li>Билатеральный стеноз почечных артерий.</li> </ul>	

диагностики и прогноза, определение различных фенотипов ОПП, применение заместительной почечной терапии на раннем этапе развития повреждения почек, влияние вируса SARS-CoV-2 на формирование долгосрочного фиброза почек и выздоровление, определение тактики диспансерного наблюдения пациентов.

## Литература

- Oyelade, T. Prognosis of COVID-19 in Patients with Liver and Kidney Diseases: An Early Systematic Review and Meta-Analysis / T. Oyelade, J. Alqahtani, G. Canciani // *Trop. Med. Infect. Dis.* – 2020 May. – Vol. 5, N. 2. – P. 80.
- COVID-19-associated acute kidney injury: consensus report of the 25th Acute Disease Quality Initiative (ADQI) Workgroup / M. K. Nadim [et al.] // *Nat. Rev. Nephrol.* – 2020 Dec. – Vol. 16. – P. 747–764.
- COVID-19 and Older Adults: What We Know / Z. Shahid [et al.] // *J. Am. Geriatr. Soc.* – 2020 May. – Vol. 68, N 5. – P. 926–929.
- Comorbid Chronic Diseases and Acute Organ Injuries Are Strongly Correlated with Disease Severity and Mortality among COVID-19 Patients: A Systemic Review and Meta-Analysis / X. Wang [et al.] // *Research (Wash D C).* – 2020 Apr. – Vol. 2020. – 2020:2402961.
- Henry, B. M. Chronic kidney disease is associated with severe coronavirus disease 2019 (COVID-19) infection / B. M. Henry, G. Lippi // *Int. Urol. Nephrol.* – 2020. – Vol. 52, N 6. – P. 1193–1194.
- International Society of Nephrology (ISN) [Electronic resource]. – Mode of access: <https://www.theisn.org/covid-19>. – Date of access: 22.01.2021.
- Presenting Characteristics, Comorbidities, and Outcomes Among 5700 Patients Hospitalized With COVID-19 in the New York City Area / S. Richardson [et al.] // *JAMA.* – 2020 May. – Vol. 323, N 20. – P. 2052–2059.
- Acute kidney injury in SARS-CoV-2 infected patients / V. Fanelli [et al.] // *Crit. Care.* – 2020 Apr. – Vol. 24, N 1. – P. 155.
- Rabb, H. Kidney diseases in the time of COVID-19: major challenges to patient care / H. Rabb // *J. Clin. Invest.* – 2020 Jun. – Vol. 130, N 6. – P. 2749–2751.
- Tissue distribution of ACE2 protein, the functional receptor for SARS coronavirus. A first step in understanding SARS pathogenesis / I. Hamming [et al.] // *J. Pathol.* – 2004 Jun. – Vol. 203, N 2. – P. 631–637.
- Angiotensin-converting enzyme 2 is a functional receptor for the SARS coronavirus / W. Li [et al.] // *Nature.* – 2003. – Vol. 426. – P. 450–454.
- Single-cell RNA-seq data analysis on the receptor ACE2 expression reveals the potential risk of different human organs vulnerable to 2019-nCoV infection / X. Zou [et al.] // *Front Med.* – 2020 Apr. – Vol. 14, N 2. – P. 185–192.
- COVID-19: A Multidisciplinary Review / N. Chams [et al.] // *Front. Public. Health.* – 2020 Jul. – Vol. 8. – P. 383.
- Attenuation of pulmonary ACE2 activity impairs inactivation of des-Arg9 bradykinin/BKB1R axis and facilitates LPS-induced neutrophil infiltration / C. P. Sodhi [et al.] // *Am. J. Physiol. Lung. Cell. Mol. Physiol.* – 2018 Jan. – Vol. 314, N 1. – P. L17–L31.
- Angiotensin II induces kidney inflammatory injury and fibrosis through binding to myeloid differentiation protein-2 (MD2) / Z. Xu [et al.] // *Sci. Rep.* – 2017 Mar. – Vol. 7. – 44911.
- Kinins and Cytokines in COVID-19: A Comprehensive Pathophysiological Approach / van de Veerdonk F. [et al.]. – (Preprints 2020040023).
- Ye, Q. The pathogenesis and treatment of the 'Cytokine Storm' in COVID-19 / Q. Ye, B. Wang, J. Mao // *J. Infect.* – 2020. – Vol. 80, N 6. – P. 607–613.
- Into the eye of the cytokine storm / J. R. Tisoncik [et al.] // *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* – 2012 Mar. – Vol. 76, N 1. – P. 16–32.
- Nasr, S. H. COVID-19–Associated Collapsing Glomerulopathy: An Emerging Entity / S. H. Nasr, J. B. Kopp // *Kidney Int. Rep.* – 2020 May. – Vol. 5, N. 6. – P. 759–761.
- Basile, D. P. Pathophysiology of Acute Kidney Injury / D. P. Basile, M. D. Anderson, T. A. Sutton // *Compr. Physiol.* – 2012 Apr. – Vol. 2, N 2. – P. 1303–1353.
- Clinical and biochemical indexes from 2019-nCoV infected patients linked to viral loads and lung injury / Y. Liu [et al.] // *Sci. China. Life Sci.* – 2020 Mar. – Vol. 63, N 3. – P. 364–374.
- Van den Akker, J. P. C. Invasive mechanical ventilation as a risk factor for acute kidney injury in the critically ill: a systematic review and meta-analysis / J. P. C. Van den Akker, M. Egal, A. B. J. Groeneveld // *Crit. Care.* – 2013 May. – Vol. 17, N 3. – P. R98.
- Renal histopathological analysis of 26 postmortem findings of patients with COVID-19 in China / H. Su [et al.] // *Kidney Int.* – 2020 Jul. – Vol. 98, N 1. – P. 219–227.
- Right ventricular function, peripheral edema, and acute kidney injury in critical illness / C. Chen [et al.] // *Kidney Int. Rep.* – 2017 Jun. – Vol. 2, N 6. – P. 1059–1065.
- Serum creatine kinase as predictor of clinical course in rhabdomyolysis: a 5-year intensive care survey / A. R. de Meijer [et al.] // *Intensive Care Med.* – 2003 Jul. – Vol. 29, N 7. – P. 1121–1125.
- Human kidney is a target for novel severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) infection / B. Diao [et al.] // *MedRxiv : the preprint server for health sciences.* – 2020 Apr.
- Endothelial cell infection and endotheliitis in COVID-19 / Z. Varga [et al.]. *Lancet.* – 2020 May. – Vol. 395, N 10234. – P. 1417–1418.
- Collapsing glomerulopathy in a COVID-19 patient / S. Kissling [et al.] // *Kidney Int.* – 2020 Jul. – Vol. 98, N 1. – P. 228–231.
- Collapsing glomerulopathy in a patient with coronavirus disease 2019 (COVID-19) / C. P. Larsen [et al.] // *Kidney Int. Rep.* – 2020 Apr. – Vol. 5, N 6. – P. 935–939.
- Патологическая анатомия инфекций, вызванной SARS-CoV-2 / Е. А. Коган [и др.] // *Судеб. медицина.* – 2020. – Т. 6, № 2. – С. 8–30.
- Kidney disease is associated with in-hospital death of patients with COVID-19 / Y. Cheng [et al.] // *Kidney Int.* – 2020 May. – Vol. 97. – P. 829–838.
- Renal Involvement and Early Prognosis in Patients with COVID-19 Pneumonia / G. Peg [et al.] // *J. Am. Soc. Nephrol.* – 2020 Jun. – Vol. 31, N 6. – P. 1157–1165.
- Acute kidney injury associated with coronavirus disease 2019 in urban New Orleans / M. M. B. Mohamed [et al.] // *Kidney360.* – 2020 Jul. – Vol. 1, N 7. – P. 614–622.
- Acute kidney injury and urinary biomarkers in hospitalized

- patients with coronavirus disease / F. Husain Syed [et al.] // *Nephrol. Dial. Transplant.* – 2020 Jul. – Vol. 35, N 7. – P. 1271–1274.
35. Coronavirus disease 19 infection does not result in acute kidney injury: an analysis of 116 hospitalized patients from Wuhan, China / L. Wang [et al.] // *Am. J. Nephrol.* – 2020. – Vol. 51, N 5. – P. 343–348.
  36. Caution on kidney dysfunctions of COVID-19 patients / Z. Li [et al.] // *MedRxiv* : the preprint server for health sciences. – 2020 Mar.
  37. SARS-CoV-2 causes a specific dysfunction of the kidney proximal tubule / A. Werion [et al.] // *Kidney Int.* – 2020 Nov. – Vol. 98, N 5. – P. 1296–1307
  38. Kidney Disease Improving Global Outcomes. KDIGO clinical practice guideline for acute kidney injury // *Kidney Int.* – 2012. – Vol. 2, N 1. – P. 1–138.
  39. Clinical characteristics of 2019 novel coronavirus infection in China / W. Guan [et al.] // *MedRxiv* : the preprint server for health sciences. – 2020 Feb.
  40. Acute kidney injury in patients hospitalized with COVID-19 / J. S. Hirsch [et al.] // *Kidney Int.* – 2020 Jul. – Vol. 98, N 1. – P. 209–218.
  41. Поражение почек при Covid-19: клинические и морфологические проявления почечной патологии у 220 пациентов, умерших от Covid-19 / Е. С. Столяревич [и др.] // *Нефрология и диализ.* – 2020. – Т. 22, спецвып. – С. 46–55.
  42. Clinical characteristics of 113 deceased patients with coronavirus disease 2019: retrospective study / T. Chen [et al.] // *BMJ.* – 2020 Mar. – Vol. 368.
  43. Novel Evidence of Acute Kidney Injury in COVID-19 / T. I. Chute [et al.] // *J. Clin. Med.* – 2020 Nov. – Vol. 9, N 11. – P. 3547.
  44. Use of renin–angiotensin–aldosterone system inhibitors and risk of COVID-19 requiring admission to hospital: a case-population study / F. J. De Abajo [et al.] // *Lancet.* – 2020 May. – Vol. 395, N 10238. – P. 1705–1714.
  45. Effect of Dexamethasone in Hospitalized Patients With COVID-19 / P. Horby [et al.] // *MedRxiv* : the preprint server for health sciences. – 2020 Jun.
  46. Алгоритмы оказания медицинской помощи пациентам с инфекцией COVID-19 : врем. метод. рек. / А. В. Пацеев [и др.] // *Рецепт.* – 2020. – Т. 23, № 6, ч. 2, спецвып. – С. 2–90.
  47. Ronco, C. Management of acute kidney injury in patients with COVID-19 / C. Ronco, T. Reis, F. Husain-Syed // *Lancet Respir. Med.* – 2020 Jul. – Vol. 8, N 7. – P. 738–742.
  48. Об утверждении некоторых клинических протоколов диагностики и лечения заболеваний системы кровообращения : постановление М-ва здравоохранения Респ. Беларусь, 06 июня 2017 г., № 59 // *Pravo.by* [Электронный ресурс] : Нац. правовой интернет-портал Респ. Беларусь / Нац. центр правовой информ. Респ. Беларусь. – Режим доступа: <https://pravo.by/>. – Дата доступа: 22.01.2021.
  49. Национальные рекомендации. Острое повреждение почек: основные принципы диагностики, профилактики и терапии. Часть II / А. В. Смирнов [и др.] // *Нефрология.* – 2016. – Т. 20, № 2. – С. 86–100.

Поступила 14.01.2021 г.

Принята в печать 15.02.2021 г.

## References

1. Oyelade T, Alqahtani J, Canciani G. Prognosis of COVID-19 in Patients with Liver and Kidney Diseases: An Early Systematic Review and Meta-Analysis. *Trop Med Infect Dis.* 2020 May;5(2):80. doi: 10.3390/tropicalmed5020080
2. Nadim MK, Forni LG, Mehta RL, Connor MJr, Liu KD, Ostermann M, et al. COVID-19-associated acute kidney injury: consensus report of the 25th Acute Disease Quality Initiative (ADQI) Workgroup. *Nat Rev Nephrol.* 2020 Dec;16(12):747–764. doi: 10.1038/s41581-020-00356-5
3. Shahid Z, Kalayanamitra R, McClafferty B, Kepko D, Ramgobin D, Patel R, et al. COVID-19 and Older Adults: What We Know. *J Am Geriatr Soc.* 2020 May;68(5):926–929. doi: 10.1111/jgs.16472
4. Wang X, Fang X, Cai Z, Wu X, Gao X, Min J, et al. Comorbid Chronic Diseases and Acute Organ Injuries Are Strongly Correlated with Disease Severity and Mortality among COVID-19 Patients: A Systemic Review and Meta-Analysis. *Research (Wash D C).* 2020 Apr;2020:2402961. doi: 10.34133/2020/2402961
5. Henry BM, Lippi G. Chronic kidney disease is associated with severe coronavirus disease 2019 (COVID-19) infection. *Int Urol Nephrol.* 2020 Jun;52(6):1193–1194. doi: 10.1007/s11255-020-02451-9
6. International Society of Nephrology (ISN) [Electronic resource]. Mode of access: <https://www.theisn.org/covid-19>. Date of access: 22.01.2021.
7. Richardson S, Hirsch JS, Narasimhan M, Crawford JM, McGinn T, Davidson KW, et al. Presenting Characteristics, Comorbidities, and Outcomes Among 5700 Patients Hospitalized With COVID-19 in the New York City Area. *JAMA.* 2020 May;323(20):2052–2059. doi: 10.1001/jama.2020.6775
8. Fanelli V, Fiorentino M, Cantaluppi V, Gesualdo L, Stallone G, Ronco C, et al. Acute kidney injury in SARS-CoV-2 infected patients. *Crit Care.* 2020 Apr;24(1):155. doi: 10.1186/s13054-020-02872-z
9. Rabb H. Kidney diseases in the time of COVID-19: major challenges to patient care. *J Clin Invest.* 2020 Jun;130(6):2749–2751. doi: 10.1172/JCI138871
10. Hamming I, Timens W, Bulthuis MLC, Lely AT, Navis GJ, van Goor H. Tissue distribution of ACE2 protein, the functional receptor for SARS coronavirus. A first step in understanding SARS pathogenesis. *J Pathol.* 2004 Jun;203(2):631–7. doi: 10.1002/path.1570
11. Li W, Moore MJ, Vasilieva N, Sui J, Wong SK, et al. Angiotensin-converting enzyme 2 is a functional receptor for the SARS coronavirus. *Nature.* 2003;426:450–54. doi: 10.1038/nature02145
12. Zou X, Chen K, Zou J, Han P, Hao J, Han Z. Single-cell RNA-seq data analysis on the receptor ACE2 expression reveals the potential risk of different human organs vulnerable to 2019-nCoV infection. *Front Med.* 2020 Apr;14(2):185–192. doi: 10.1007/s11684-020-0754-0
13. Chams N, Chams S, Badran R, Shams A, Araji A, Raad M, et al. COVID-19: A Multidisciplinary Review. *Front Public Health.* 2020 Jul;8:383. doi: 10.3389/fpubh.2020.00383
14. Sodhi CP, Wohlford-Lenane C, Yamaguchi Y, Prindle T, Fulton WB, Wang S, et al. Attenuation of pulmonary ACE2



- activity impairs inactivation of des-Arg9 bradykinin/BKB1R axis and facilitates LPS-induced neutrophil infiltration. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.* 2018 Jan;314(1):L17-L31. doi: 10.1152/ajplung.00498.2016
15. Xu Z, Li W, Han J, Zou C, Huang W, Yu W. Angiotensin II induces kidney inflammatory injury and fibrosis through binding to myeloid differentiation protein-2 (MD2). *Sci Rep.* 2017 Mar;7:44911. doi: 10.1038/srep44911
16. van de Veerdonk F, Netea MG, van Deuren M, van den Hoogen FHJ, de Mast Q, Bruggemann R, et al. Kinins and Cytokines in COVID-19: A Comprehensive Pathophysiological Approach. Preprints 2020040023. doi: 10.20944/preprints202004.0023.v1
17. Ye Q, Wang B, Mao J. The pathogenesis and treatment of the 'Cytokine Storm' in COVID-19. *J Infect.* 2020 Jun;80(6):607-613. doi: 10.1016/j.jinf.2020.03.037
18. Tisoncik JR, Korth MJ, Simmons CP, Farrar J, Martin TR, Katze MG. Into the eye of the cytokine storm. *Microbiol Mol Biol Rev.* 2012 Mar;76(1):16-32. doi: 10.1128/MMBR.05015-11
19. Nasr SH, Kopp JB. COVID-19–Associated Collapsing Glomerulopathy: An Emerging Entity. *Kidney Int Rep.* 2020 May;5(6):759-761. doi: 10.1016/j.ekir.2020.04.030
20. Basile DP, Anderson MD, Sutton TA. Pathophysiology of Acute Kidney Injury. *Compr Physiol.* 2012 Apr;2(2):1303-53. doi: 10.1002/cphy.c110041
21. Liu Y, Yang Y, Zhang C, Huang F, Wang F, Yuan J, et al. Clinical and biochemical indexes from 2019-nCoV infected patients linked to viral loads and lung injury. *Sci China Life Sci.* 2020 Mar;63(3):364-374. doi: 10.1007/s11427-020-1643-8
22. Van den Akker JPC, Egal M, Groeneveld ABJ. Invasive mechanical ventilation as a risk factor for acute kidney injury in the critically ill: a systematic review and meta-analysis. *Crit Care.* 2013 May 27;17(3):R98. doi: 10.1186/cc12743
23. Su H, Yang M, Wan C, Yi L-X, Tang F, Zhu H-Y, et al. Renal histopathological analysis of 26 postmortem findings of patients with COVID-19 in China. *Kidney Int.* 2020 Jul;98(1):219-227. doi: 10.1016/j.kint.2020.04.003
24. Chen C, Lee J, Johnson AE, Mark RG, Celi LA, Danziger J. Right ventricular function, peripheral edema, and acute kidney injury in critical illness. *Kidney Int Rep.* 2017 Jun;2(6):1059-1065. doi: 10.1016/j.ekir.2017.05.017
25. de Meijer AR, Fikkers BG, de Keijzer MH, van Engelen BG, Drenth JPH. Serum creatine kinase as predictor of clinical course in rhabdomyolysis: a 5-year intensive care survey. *Intensive Care Med.* 2003 Jul;29(7):1121-5. doi: 10.1007/s00134-003-1800-5
26. Diao B, Wang C, Wang R, Feng Z, Tan Y, Wang H, et al. Human kidney is a target for novel severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) infection. *MedRxiv: the preprint server for health sciences.* 2020 Apr. doi: 10.1101/2020.03.04.20031120
27. Varga Z, Flammer AJ, Steiger P, Haberecker M, Andermatt R, Zinkernagel AS, et al. Endothelial cell infection and endotheliitis in COVID-19. *Lancet.* 2020 May;395(10234):1417-1418. doi: 10.1016/S0140-6736(20)30937-5
28. Kissling S, Rotman S, Gerber C, Halfon M, Lamoth F, Comte D, et al. Collapsing glomerulopathy in a COVID-19 patient. *Kidney Int.* 2020 Jul;98(1):228-231. doi: 10.1016/j.kint.2020.04.006
29. Larsen CP, Bourne TD, Wilson JD, Saqqa O, Sharshir MA. Collapsing glomerulopathy in a patient with coronavirus disease 2019 (COVID-19). *Kidney Int Rep.* 2020 Apr;5(6):935-939. doi: 10.1016/j.ekir.2020.04.002
30. Kogan EA, Berezovskii IuS, Protchenko DD, Bagdasarian TR, Gretcov EM, Demura SA, i dr. Pathological anatomy of SARS-COV-2 infections. *Sudeb Meditsina.* 2020;6(2):8-30. (In Russ.)
31. Cheng Y, Luo R, Wang K, Zhang M, Wang Z, Dong L, et al. Kidney disease is associated with in-hospital death of patients with COVID-19. *Kidney Int.* 2020 May;97(5):829-838. doi: 10.1016/j.kint.2020.03.005
32. Pei G, Zhang Z, Peng J, Liu L, Zhang C, Yu C, et al. Renal Involvement and Early Prognosis in Patients with COVID-19 Pneumonia. *J Am Soc Nephrol.* 2020 Jun;31(6):1157-1165. doi: 10.1681/ASN.2020030276
33. Mohamed MMB, Lukitsch I, Torres-Ortiz AE, Walker JB, Varghese V, Hernandez-Arroyo CF, et al. Acute kidney injury associated with coronavirus disease 2019 in urban New Orleans. *Kidney360.* 2020 Jul;1(7):614-22. doi: 10.34067/KID.0002652020
34. Husain-Syed F, Wilhelm J, Kassoumeh S, Birk H-W, Herold S, Vadasz I, et al. Acute kidney injury and urinary biomarkers in hospitalized patients with coronavirus disease. *Nephrol Dial Transplant.* 2020 Jul;35(7):1271-1274. doi: 10.1093/ndt/gfaa162
35. Wang L, Li X, Chen H, Yan S, Li D, Li Y, et al. Coronavirus disease 19 infection does not result in acute kidney injury: an analysis of 116 hospitalized patients from Wuhan, China. *Am J Nephrol.* 2020;51(5):343-348. doi: 10.1159/000507471
36. Li Z, Wu M, Yao J, Guo J, Liao X, Song S, et al. Caution on kidney dysfunctions of COVID-19 patients. *MedRxiv: the preprint server for health sciences.* 2020 Mar. doi: 10.1101/2020.02.08.20021212
37. Werion A, Belkhir L, Perrot M, Schmit G, Aydin S, Chen Z, et al. SARS-CoV-2 causes a specific dysfunction of the kidney proximal tubule. *Kidney Int.* 2020 Nov;98(5):1296-1307. doi: 10.1016/j.kint.2020.07.019
38. Kidney Disease Improving Global Outcomes. KDIGO clinical practice guideline for acute kidney injury. *Kidney Int.* 2012;2(1):1-138.
39. Guan W, Ni Z, Hu Y, Liang W, Ou C-quan, He J-xing, et al. Clinical characteristics of 2019 novel coronavirus infection in China. *MedRxiv: the preprint server for health sciences.* 2020 Feb. doi: 10.1101/2020.02.06.20020974
40. Hirsch JS, Ng JH, Ross DW, Sharma P, Shah HH, Barnett RL, et al. Acute kidney injury in patients hospitalized with COVID-19. *Kidney Int.* 2020 Jul;98(1):209-218. doi: 10.1016/j.kint.2020.05.006
41. Stoliarevich ES, Frolova NF, Artiukhina LIu, Variasin VV. Kidney damage in Covid-19: clinical and morphological manifestations of renal pathology in 220 patients who died from Covid-19. *Nefrologiia Dializ.* 2020;22(spetsvyp):46-55. (In Russ.)
42. Chen T, Wu D, Chen H, Yan W, Yang D, Chen G, et al. Clinical characteristics of 113 deceased patients with coronavirus disease 2019: retrospective study. *BMJ.* 2020 Mar;368. doi: 10.1136/bmj.m1091
43. Chueh T-I, Zheng C-M, Hou Y-C, Lu K-C. Novel Evidence of Acute Kidney Injury in COVID-19. *J Clin Med.* 2020 Nov;9(11):3547. doi: 10.3390/jcm9113547
44. de Abajo FJ, Rodríguez-Martín S, Lerma V, Mejía-Abril G, Aguilar M, García-Luque A, et al. Use of renin-angiotensin-

- aldosterone system inhibitors and risk of COVID-19 requiring admission to hospital: a case-population study. *Lancet*. 2020 May;395(10238): 1705-14. doi: 10.1016/S0140-6736(20)31030-8
45. Horby P, Lim WS, Emberson J, Mafham M, Bell J, Linsell L, et al. Effect of Dexamethasone in Hospitalized Patients With COVID-19. *MedRxiv*: the preprint server for health sciences. – 2020 Jun. doi: 10.1056/NEJMoa2021436.
46. Patceev AV, Migal TF, Karpov IA, Solovei NV, Svetlitskaia OI, Gavrilenko LN, i dr. Algorithms for providing medical care to patients with COVID-19 infection: vrem metod rek. *Retsept*. 2020;23(6 ch 2 spetsvyp):2-90. (In Russ.)
47. Ronco C, Reis T, Husain-Syed F. Management of acute kidney injury in patients with COVID-19. *Lancet Respir. Med*. 2020 Jul;8(7):738-42. doi: 10.1016/S2213-2600(20)30229-0
48. On the approval of some clinical protocols for the diagnosis and treatment of diseases of the circulatory system: postanovlenie M-va zdravookhraneniia Resp Belarus', 06 iunija 2017 g, № 59. *Nats tsentr pravovoi inform Resp Belarus'*. Pravo. by [Elektronnyi resurs]: Nats pravovoi internet-portal Resp Belarus'. *Rezhim dostupa*: <https://pravo.by/>. *Data dostupa*: 22.01.2021. (In Russ.)
49. Smirnov AV, Dobronravov VA, Rumiantsev AS, Shilov EM, Vatazin AV, Kaiukov IG. National guidelines. Acute kidney injury: basic principles of diagnosis, prevention and therapy. *Chast' II. Nefrologiia*. 2016;20(2):86-100. (In Russ.)

Submitted 14.01.2021

Accepted 15.02.2021

#### Сведения об авторах:

Выхристенко Л.Р. – д.м.н., профессор, заведующая кафедрой общей врачебной практики, Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет;

Счастливенко А.И. – к.м.н., доцент кафедры общей врачебной практики, Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет;

Бондарева Л.И. – старший преподаватель кафедры общей врачебной практики, Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет;

Сидоренко Е.В. – старший преподаватель кафедры общей врачебной практики, Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет;

Музыка О.Г. – старший преподаватель кафедры общей врачебной практики, Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет.

#### Information about authors:

*Vykhrystsenka L.R. – Doctor of Medical Sciences, professor, head of the Chair of General Medical Practice, Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University;*

*Schastlivenko A.I. – Candidate of Medical Sciences, associate professor of the Chair of General Medical Practice, Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University;*

*Bondarava L.I. – senior lecturer of the Chair of General Medical Practice, Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University;*

*Sidarenka A.V. – senior lecturer of the Chair of General Medical Practice, Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University;*

*Muzyka O.G. – senior lecturer of the Chair of General Medical Practice, 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 общей врачебной практики. E-mail: ludros@mail.ru – Выхристенко Людмила Ростиславна.

**Correspondence address:** Republic of Belarus, 210009, Vitebsk, 27 Frunze ave., Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University, Chair of General Medical Practice. E-mail: ludros@mail.ru – Liudmila R. Vykhrystsenka.

## **HLA-АССОЦИИРОВАННЫЕ АНТИТРОМБОЦИТАРНЫЕ АНТИТЕЛА. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ**

**ТИЛИЦКАЯ Е.М., СЕМЕНОВ Г.В., ДАШКЕВИЧ Э.В.**

Республиканский научно-практический центр трансфузиологии и медицинских биотехнологий,  
г. Минск, Республика Беларусь

Вестник ВГМУ. – 2021. – Том 20, №1. – С. 24-30.

## **HLA-ASSOCIATED ANTIPLATELET ANTIBODIES. LITERATURE REVIEW**

**TILITSKAJA E.M., SEMENOV G.V., DASHKEVICH E.V.**

Republican Scientific and Practical Center for Transfusiology and Medical Biotechnologies, Minsk, Republic of Belarus

Vestnik VGMU. 2021;20(1):24-30.

---

### **Резюме.**

В статье представлен литературный обзор изданий на тему: HLA-ассоциированные антитромбоцитарные антитела. Описывается роль HLA-антитромбоцитарных антител в развитии рефрактерности при трансфузиях тромбоконцентрата. Несмотря на совершенствование методов подготовки, хранения крови и ее компонентов, тщательное соблюдение правил переливания, к сожалению, посттрансфузионные гемолитические и негемолитические реакции и осложнения остаются частым явлением. При многократных переливаниях тромбоцитарной массы у некоторых пациентов может возникнуть рефрактерность к повторным трансфузиям тромбоцитов, связанная с развитием у них состояния аллоиммунизации. Успех заместительной терапии зависит от количества перелитых тромбоцитов и их функциональной полноценности. Эффективность переливания тромбоцитов оценивают по их приросту сразу после, через час и через сутки после переливания. На их прирост через сутки могут повлиять сопутствующие гематологические осложнения. Для минимизации риска развития рефрактерности к тромбоцитам донора и возникновения трансфузионных реакций и посттрансфузионных осложнений необходимо проводить подбор пар «донор-реципиент» с учетом оценки их совместимости по антигенам системы HLA по локусам A и B.

*Ключевые слова:* HLA-антигены, HLA-антитела, рефрактерность, трансфузии тромбоцитов.

### **Abstract.**

The article presents a literature review of publications on the topic: HLA-associated antiplatelet antibodies. The role of HLA-antiplatelet antibodies in the development of refractoriness during platelet concentrate transfusions is described. Despite the improvement in the methods of preparation, storage of blood and its components, careful adherence to the rules of transfusion, unfortunately, post-transfusion hemolytic and non-hemolytic reactions and complications remain a frequent occurrence. With multiple transfusions of platelet mass, some patients may become refractory to repeated transfusions of platelets, associated with the development of an alloimmunization state in them. The success of replacement therapy depends on the number of platelets transfused and their functional usefulness. The effectiveness of platelets transfusion is assessed by their increase immediately after, one hour and one day after the transfusion. Their growth in a day can be affected by concomitant hematological complications. To minimize the risk of the development of refractoriness to donor platelets and the occurrence of transfusion reactions and post-transfusion complications, it is necessary to select «donor-recipient» pairs, taking into account the assessment for their compatibility by antigens of the HLA system at loci A and B.

*Key words:* HLA antigens, HLA antibodies, refractoriness, platelet transfusions.

Переливание тромбоцитного концентрата стало в последние годы обязательным условием программной терапии опухолей системы крови, апластической анемии, проведения трансплантации костного мозга [1].

В Республике Беларусь в настоящее время при переливаниях тромбоцитарного концентрата учитывают идентичность донора и реципиента по системам ABO и Rh [2]. Под «защитой» переливаний тромбоцитного концентрата проводятся курсы интенсивной химиотерапии с заранее планируемым периодом длительного агранулоцитоза и тромбоцитопении, а также выполняются полостные операции (лапаротомия, спленэктомия), которые были невозможны ранее [3]. Было установлено, что средней терапевтической дозой концентрата тромбоцитов является переливание не менее  $50-70 \times 10^9$  тромбоцитов на каждые 10 кг массы тела или  $200-250 \times 10^9$  на 1 м<sup>2</sup> поверхности тела [2, 4]. Следовательно, необходимое терапевтическое количество тромбоцитов для взрослых реципиентов должно составлять  $300-500 \times 10^9$ .

В настоящее время в РНПЦ трансфузиологии и медицинских биотехнологий используется автоматический тромбоцитаферез, что позволило повысить обеспечение потребности в концентрате тромбоцитов – с 46% ранее до 90%. С помощью данного метода можно получить наибольшее количество тромбоцитов от одного донора.

Однако практически всегда в концентрате тромбоцитов присутствует примесь лейкоцитов и эритроцитов, в связи с чем при появлении у реципиентов рефрактерности или тяжелых трансфузионных реакций на введение концентрата тромбоцитов необходимо проводить удаление эритроцитов и особенно лейкоцитов. Между тем, при гемотрансфузионной терапии в организм реципиента вводится множество антигенов различных иммуногенетических систем, особенно системы HLA, что способствует развитию трансфузионных реакций и посттрансфузионных осложнений [5-7].

Общеизвестно, что на поверхности тромбоцитов человека присутствует множество антигенов различных аллогенных систем. Среди них наибольшее значение имеют антигены главного комплекса гистосовместимости (HLA), собственно тромбоцитарные (Human Platelet Antigens (HPA)), а также эритроцитов (ABO, Lewis, I, i, P). Собственно тромбоцитарные антигены проявляют себя в трансфузиологии и акушестве, обуслов-

ливая умеренные посттрансфузионные реакции и тромбоцитопению новорожденных [5, 7-11].

На тромбоцитах установлено присутствие антигенов главного комплекса гистосовместимости (HLA) – HLA-A, B, C [8, 9, 12]. Только антигены HLA класса I представлены на тромбоцитах. Среди них HLA A и HLA B обнаруживаются в больших количествах. Антигены HLA C выявляются в гораздо меньшем количестве на тромбоцитах [13, 14]. Именно HLA антигены I класса, присутствующие на самих тромбоцитах, служат наиболее частой причиной сенсibilизации и рефрактерности, развивающихся при многократных переливаниях тромбоцитного концентрата [15].

Вариации HLA-экспрессии могут иметь клиническое значение при трансфузиях донорских тромбоцитов с низким содержанием антигенных детерминант, способных нормально выживать у больного с HLA-антителами. В зависимости от генотипа количество антигенных детерминант варьируется: в гомозиготном состоянии на одном тромбоците содержится от 34 000 до 43 000 молекул HPA-Ia, в гетерозиготном – от 19 000 до 24 000 молекул. Если сравнить количество HLA-детерминант (например, HLA-A2 присутствует в количестве от 4000 до 10 000 детерминант на тромбоцит), расположенных на том же гликопротеине, можно заметить, что их экспрессировано значительно меньше, чем HPA-детерминант [9, 14].

Учеными установлено, что на тромбоцитах также присутствуют собственные антигены. По литературным данным описано более 20 тромбоцит-специфичных антигенов [14]. До 1990 г. не было единой системы для обозначения различных вариантов антигенов тромбоцитов и исходя из этого многие ученые использовали различные названия для обозначения одних и тех же антигенов. Как следствие этого была путаница, что затрудняло сопоставление результатов типирования в различных лабораториях. Благодаря современным иммуногенетическим методам стало возможно изучить молекулярную структуру не только самой белковой молекулы, но и гена, который кодирует ее синтез. Гены системы HPA находятся на длинном плече 5, 17 и 22-й хромосом. Появление аллельных вариантов связано с единичным нуклеотидным полиморфизмом (заменой одного нуклеотида в аллель-специфичных участках). Исходя из вышесказанного в 1990 г. была предложена единая международная номен-

клатура тромбоцит-специфичных аллоантигенов – HPA (Human Platelet Antigens) [16, 17].

Согласно данной классификации HPA пронумерованы последовательно в соответствии с датой открытия и обозначены буквами в зависимости от частоты встречаемости аллеля («a» встречается значительно чаще «b»), например, HPA-1a, HPA-1b, HPA-2a и т.д. Если антитела были выявлены только к одному аллелю, то к названию антигена добавляется «w» (HPA-10bw). В данной номенклатуре были использованы только те антигены, антитела к которым были обнаружены [17-20].

В европейской популяции частота аллелей большинства HPA-систем смещается в сторону «a» аллеля, а гомозиготы по «b» встречаются около 0-15 %. Исследования ученых показали, что частота встречаемости аллоантигенов тромбоцитов в различных популяциях среди жителей разных стран имеет значительные различия в распространенности этих антигенов. К примеру, HPA-1 полиморфизм почти отсутствует в популяциях Дальнего Востока, в то время как HPA-4 полиморфизм практически отсутствует у европейцев, но присутствует в дальневосточной популяции [14]. По данным Американской Ассоциации Банков Крови в США среди наибольших рисков, обусловленных трансфузиями тромбоцитов, лидирующее место занимают фебрильные (1 на 14 трансфузий) и аллергические (1 на 50 трансфузий) реакции, острое повреждение легких, связанное с переливанием крови (TRALI) (1 на 138 000 трансфузий) [17].

В целом же антигены тромбоцитов остаются наименее изученными среди других форменных элементов крови, наличие некоторых из них остается до сих пор спорным.

### **Антитромбоцитарные антитела и их клиническое значение**

Антитромбоцитарные антитела могут быть выявлены при различных заболеваниях. К ним относятся: системная красная волчанка (СКВ), аллоиммунная тромбоцитопения новорожденных, идиопатическая тромбоцитопеническая пурпура, бактериальные и вирусные инфекции (ВИЧ, инфекционный мононуклеоз, сепсис), а также прием некоторых лекарственных средств. В настоящее время описано несколько антигенов-мишеней для этих антител, в том числе гликопротеины GPIIb/IIIa, GPIb/IX, GP5 и рецептор тромбопоэтина.

В случае обнаружения антитромбоцитарных антител выявляются как качественные изменения тромбоцитов, так и их количественные вариации. Во-первых, при взаимодействии антител с антигенами происходит в большей степени разрушение тромбоцитов клетками ретикулоэндотелиальной системы в селезенке и в меньшей степени в печени. И вследствие этого будет развиваться тромбоцитопения. Во-вторых, антитела, которые блокируют гликопротеины тромбоцитов, нарушают адгезию и процесс дегрануляции тромбоцитов, в результате чего развивается тромбоцитопатия [9, 14].

Сенсибилизация аллоантигенами в результате беременностей или гемотрансфузий может приводить к выработке аллоантител. По специфичности аллоантитела к тромбоцитам подразделяют на 3 группы: ABO-антитела, HLA-антитела и антитела к тромбоцитспецифичным антигенам [14].

Иммунологические реакции негемолизического типа могут развиваться в результате появления у пациентов анти-HLA и анти-HPA-антител, вследствие чего будет полностью отсутствовать клинический эффект от трансфузии тромбоцитов.

Иногда после переливаний тромбоцитов у доноров, несовместимых с реципиентом как по HPA, так и HLA, в организме пациента возникают тяжелые нарушения в иммунной системе, которые проявляются в развитии аутоиммунной тромбоцитопении и приводят к тяжелым геморрагическим проявлениям. Аллоиммунизация к тромбоцитарным антигенам происходит чаще у реципиентов, которым осуществляли многократные трансфузии цельной крови и компонентов, так как при каждом последующем переливании увеличивается вероятность получения антигена, отсутствующего у реципиента, и возникновения иммунного ответа [14].

### **Рефрактерность к трансфузиям тромбоцитов**

При внедрении в клиническую практику тромбоцитотерапии летальность от кровотечений при заболеваниях системы крови снизилась (с 60-70% до 10% у больных с острым лейкозом и апластической анемией). Серьезным осложнением, препятствующим получению терапевтического эффекта от переливаний тромбоцитов, является рефрактерность, означающая стойкое

отсутствие лечебного эффекта у больного, от переливания концентрата тромбоцитов. Иммунологический конфликт лежит в основе 25% случаев рефрактерности к тромбоцитам [21]. Аллоиммунизация – наиболее частая причина рефрактерности, которая вызвана многократными трансфузиями крови и ее компонентов, проявляющаяся в снижении количества тромбоцитов и их выживаемости после переливаний по отношению к прогнозируемому результату, в связи с наличием в крови реципиента аллоантител (HLA-A и/или HLA-B-антител) [9, 21].

У 3-9% рефрактерных пациентов в сочетании с HLA-антителами встречаются HPA-антитела (анти-HPA-1a, 1b, 3a, 2b и 15b антитела). HLA-антитела встречаются преимущественно у пациентов с многократными трансфузиями, а также у женщин, имеющих в анамнезе беременности. HLA-сенсibilизация при трансфузиях развивается вследствие присутствия примеси лимфоцитов, содержащихся в большинстве гемокомпонентов [14].

Представление донорских антигенов в большей мере обусловлено донорскими лимфоцитами. Соответственно, уменьшение количества лейкоцитов в дозах тромбоцитов уменьшает риск первичной HLA-аллоиммунизации. Однако если у пациента уже есть аллоиммунизация к лейкоцитам (вследствие беременности или предыдущего переливания нелейкодеплецированных компонентов крови), антигенов HLA класса I на самих тромбоцитах может быть достаточно для развития рефрактерности к трансфузиям тромбоцитов.

Трансфузии тромбоцитов обычно проводят без предварительной реакции cross-match между парами «донор-реципиент», учитывая только совместимость по AB0 и Rh [5, 6, 21].

Данным пациентам целесообразно проводить предварительный подбор доноров с типированием по HLA-системе, т.к. именно HLA-антигены I класса, присутствующие на самих тромбоцитах, наиболее часто служат причиной сенсibilизации и рефрактерности, развивающихся при многократных переливаниях тромбоцитного концентрата [6]. Связанные с антитромбоцитарными антителами тромбоциты разрушаются в селезенке. Поэтому необходимо исследовать сыворотку пациента для подбора совместимых тромбоцитов донора [2, 4].

Проводить HLA подбор тромбоцитов при аллоиммунизации желательно, но не всег-

да возможен. Вероятность совпадения по HLA-антигенам у родных братьев и сестер составляет 1:4, у неродственных доноров – 1:1000. Индивидуальный подбор тромбоцитов осуществляется иногда при тяжелой аллоиммунизации [22].

Об эффективности трансфузии тромбоцитов говорят по их приросту сразу после, через час и через сутки после переливания. Успешной считается трансфузия, если через час уровень тромбоцитов увеличивается примерно на 25000 1/мкл. На их прирост в течение суток могут повлиять сопутствующие гематологические осложнения, в частности антитромбоцитарные антитела [6].

Вследствие объективной трудоемкости исследований антигенов лейкоцитов и тромбоцитов, подбор пар «донор – реципиент», совместимых по антигенам тромбоцитов и лейкоцитов, не проводится. Обычно однократные переливания тромбоконцентрата, полученного аферезом, не требуют подбора по системе HLA и HPA [2, 4, 6].

У аллоиммунизированных пациентов с множественными трансфузиями и рефрактерностью к тромбоцитам в анамнезе необходимо осуществлять комплексный подход к подбору гемокомпонента, предусматривающего совместимость по антигенам HLA I класса локусов A и B или постановку перекрестной лимфоцитотоксической пробы на совместимость. Количество подходящих доноров обеспечивается при наличии регистра типированных доноров в 2-5 тыс. человек [1]. Следует заметить, что около 30% трансфузий тромбоцитов, подобранных в лимфоцитотоксическом тесте, являются неэффективными. Трансфузии тромбоцитов, совместимых по антигенам системы HLA, у 20-25 % больных приводили к выработке антител против специфических антигенов тромбоцитов [23].

Принимая во внимание определенные трудности типирования серологическими методами тромбоцитарных антигенов, в последние годы все чаще с этой целью используются молекулярно-генетические методы, основанные на использовании полимеразной цепной реакции (ПЦР) [14].

## Заключение

Проведя анализ литературных данных, было установлено, что существующие на данном этапе методы исследования антитромбоцитарных антител, а также протоколы нуждаются в дальнейшем изучении, совершенствовании и стан-

дартизации [24]. Индивидуальный перекрестный подбор HLA-совместимых доноров и реципиентов практически не проводится [2, 14, 25].

Таким образом, решение проблемы подбора пар «донор-реципиент» по показаниям особенно актуально при предшествующих многократных трансфузиях тромбоцитов путем определения HLA-ассоциированных антитромбоцитарных антител в трансфузионно-значимых ситуациях с целью предотвращения трансфузионных реакций и посттрансфузионных осложнений. Подобная тактика наиболее эффективно обеспечит безопасность гемотрансфузий.

## Литература

1. Изучение состояния гемостаза у беременных женщин с риском наследственной тромбофилии / Э. В. Дашкевич [и др.] // Вестн. гематологии. – 2017. – Т. 13, № 3. – С. 25–26.
2. Переливание донорской крови и ее компонентов : инструкция М-ва здравоохранения Респ. Беларусь : утв. 1 дек. 2003 г. / Э. Л. Свириновская [и др.] // Эталон [Электронный ресурс] / Нац. центр правовой информ. Респ. Беларусь. – Минск, 2021.
3. Обеспечение гистосовместимости донора и реципиента [Электронный ресурс] // Островок здоровья : записная книжка врача акушера-гинеколога Маркун Татьяны Андреевны : [сайт]. – Режим доступа: [http://bono-esse.ru/blizzard/Lab/MedlabDs/PK/hist\\_sovm\\_donor-recipient.html](http://bono-esse.ru/blizzard/Lab/MedlabDs/PK/hist_sovm_donor-recipient.html). – Дата доступа: 18.01.2021.
4. Инструкция по применению компонентов крови : приказ Минздрава РФ, 25 нояб. 2002 г., № 363 // Консультант плюс [Электронный ресурс]. – Москва, 2021.
5. Руководство по клиническому применению донорской крови и ее компонентов : для мед. работников всех уровней здравоохранения / М-во здравоохранения Кыргыз. Респ., Респ. центр крови. – Бишкек, 2015. – Режим доступа: [http://med.kg/images/MyFiles/KP/gematologiya/2\\_kr\\_po\\_komponentam\\_krovi.pdf](http://med.kg/images/MyFiles/KP/gematologiya/2_kr_po_komponentam_krovi.pdf). – Дата доступа: 26.01.2021.
6. Переливание тромбоцитов [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://www.transfusion.ru/doc/3639.htm>. – Дата доступа: 18.01.2021.
7. A real-life evaluation of two platelet cross-matching programmes for the treatment of patients refractory to platelet transfusions / N. Revelli [et al.] // Vox. Sang. – 2019 Jan. – Vol. 114, N 1. – P. 73–78.
8. Norton, A. Review: platelet alloantigen and antibodies and their clinical significance / A. Norton, D. Allen, M. Murphy // Immunohematology. – 2004. – Vol. 20, N 2. – P. 89–102.
9. Зотиков, Е. А. Тромбоциты и антитромбоцитарные антитела / Е. А. Зотиков, А. Г. Бабаева, Л. Л. Головкина. – Москва : Монолит, 2003. – 128 с.
10. Hayashi, T. Advances in alloimmune thrombocytopenia: perspectives on current concepts of human platelet antigens, antibody detection strategies, and genotyping // T. Hayashi, F. Hirayama / Blood Transfus. – 2015 Jul. – Vol. 13, N 3. – P. 380–390.
11. Антигенные и морфо-функциональные особенности тромбоцитов в норме и при гемофилии при различной АВО-групповой принадлежности крови / Ф. Н. Гильмирова [и др.] // Мед. альм. – 2012. – № 2 (21). – С. 76–78.
12. Головкина, Л. Л. Антигены тромбоцитов (обозначения, молекулярные основы построения, частота встречаемости в популяциях) (обзор литературы) / Л. Л. Головкина, Е. А. Зотиков // Клин. лаборатор. диагностика. – 2002. – № 3. – С. 23–24.
13. Brown, C. J. Clinical relevance of the HLA system in blood transfusion / C. J. Brown, C. V. Navarrete // Vox. Sang. – 2011 Aug. – Vol. 101, N 2. – P. 93–105.
14. Иммуногенетический профиль (HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-DRB1, HLA-DQB1) популяции русских Челябинской области / Т. А. Сулова [и др.] // Гематология и трансфузиология. – 2015. – Т. 60, № 3. – С. 28–35.
15. Жибурт, Е. Конспект врача / Е. Жибурт, С. Мадзаев // Мед. газета. – 2013. – 21 июня (№ 45). – С. 8–9.
16. Антигены и антитела к тромбоцитам (обзор литературы) / Н. В. Минеева [и др.] // Онкогематология. – 2013. – № 3. – С. 60–68.
17. Platelet Transfusion: A Clinical Practice Guideline From the AABB / R. M. Kaufman [et al.] // Ann. Intern. Med. – 2015 Feb. – Vol. 162, N 3. – P. 205–213.
18. Масчан, А. А. Иммуно-опосредованные тромбоцитопении новорожденных: дифференциальный диагноз и принципы терапии (обзор литературы) / А. А. Масчан, А. Г. Румянцев // Вопр. гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии. – 2010. – Т. 9. – № 3. – С. 13–18.
19. HPA genotyping with sequence-specific priming (PCR-SSP): a streamlined method for rapid routine investigation / G. Cavanagh [et al.] // Transfus. Med. – 1997 Mar. – Vol. 7, N 1. – P. 41–45.
20. Murphy, M. Practical Transfusion Medicine / M. Murphy, D. Pamphilon, N. M. Hedde. – Wiley-Blackwell, 2013. – 576 p.
21. Иммунологические аспекты переливания донорской крови. Постгемотрансфузионные реакции, обусловленные аллогенными клетками донорской крови / Б. А. Рамазанова [и др.] // Вестн. КазНМУ. – 2014. – № 4. – С. 254–258.
22. Трансплантация: подбор донора [Электронный ресурс] // База знаний по биологии : [сайт]. – Режим доступа: <http://humbio.ru/humbio/allerg/001b99eb.htm>. – Дата доступа: 18.01.2021.
23. Review: platelet matching for alloimmunized patients-room for improvement / S. T. Nance [et al.] // Immunohematology. – 2004. – Vol. 20, N 2. – P. 80–88.
24. Report on the 15th International Society of Blood Transfusion platelet immunology workshop / U. J. Sachs [et al.] // Vox. Sang. – 2012 Nov. – Vol. 103, N 4. – P. 343–352.
25. Рефрактерность к трансфузиям донорских тромбоцитов у больных апластической анемией и гемобластозами / А. Ф. Рахмани [и др.] // Онкогематология. – 2018. – Т. 13, № 2. – С. 62–72.

Поступила 17.11.2020 г.

Принята в печать 15.02.2021 г.

## References

1. Dashkevich EV, Veremeeva VV, Kurlovich IV, Matach EA. Study of the state of hemostasis in pregnant women with a risk of hereditary thrombophilia. *Vestn Gematologii*. 2017;13(3):25-6. (In Russ.)
2. Svirnovskaia EL, Bondarenko BC, Brovko IV, Gapanovich VN, Klimovich VV, Smirnova LA, i dr. Transfusion of donor blood and its components: instruktsiia M-va zdravookhraneniia Resp Belarus': utv 1 dek 2003 g. Nats tsentr pravovoi inform Resp Belarus'. Etalon [Elektronnyi resurs]. Minsk, RB; 2021. (In Russ.)
3. Ensuring histocompatibility between donor and recipient [Elektronnyi resurs]. Ostrovok zdorov'ia: zapisnaia knizhka vracha akushera-ginekologa Markun Tat'iany Andreevny: [sait]. Rezhim dostupa: [http://bono-esse.ru/blizzard/Lab/MedlabDs/PK/hist\\_sovm\\_donor-recipient.html](http://bono-esse.ru/blizzard/Lab/MedlabDs/PK/hist_sovm_donor-recipient.html). Data dostupa: 18.01.2021. (In Russ.)
4. Instructions for the use of blood components: prikaz Minzdrava RF, 25 noiab 2002 g, № 363. Konsul'tant plius [Elektronnyi resurs]. Moscow, RF; 2021. (In Russ.)
5. M-vo zdravookhraneniia Kyrgyz Resp, Resp tsentr krovi. Guidelines for the clinical use of donated blood and its components: dlia med rabotnikov vseh urovnei zdravookhraneniia. Bishkek, Kyrgyzstan; 2015. Rezhim dostupa: [http://med.kg/images/MyFiles/KP/gematologiya/2\\_kr\\_po\\_komponentam\\_krovi.pdf](http://med.kg/images/MyFiles/KP/gematologiya/2_kr_po_komponentam_krovi.pdf). Data dostupa: 26.01.2021. (In Russ.)
6. Platelet transfusion [Elektronnyi resurs]. Rezhim dostupa: <http://www.transfusion.ru/doc/3639.htm>. Data dostupa: 18.01.2021. (In Russ.)
7. Revelli N, Villa MA, Olivero B, Bresciani S, Flores M, Marini M, et al. A real-life evaluation of two platelet cross-matching programmes for the treatment of patients refractory to platelet transfusions. *Vox Sang*. 2019 Jan;114(1):73-78. doi: 10.1111/vox.12736
8. Norton A, Allen D, Murphy M. Review: platelet alloantigen and antibodies and their clinical significance. *Immunohematology*. 2004;20(2):89-102.
9. Zotikov EA, Babaeva AG, Golovkina LL. Platelets and antiplatelet antibodies. Moscow, RF: Monolit; 2003. 128 p. (In Russ.)
10. Hayashi T, Hirayama F. Advances in alloimmune thrombocytopenia: perspectives on current concepts of human platelet antigens, antibody detection strategies, and genotyping. *Blood Transfus*. 2015 Jul;13(3):380-90. doi: 10.2450/2015.0275-14
11. Gilmiliarova FN, Gusiakova OA, Sidorova IF, Epifanova AA, Gilmutdinov RG, Davydkin IL, i dr. Antigenic and morpho-functional features of platelets in normal conditions and in hemophilia with different ABO blood group affiliation. *Med Al'm*. 2012;(2 (21)):76-8. (In Russ.)
12. Golovkina LL, Zotikov EA. Platelet antigens (designations, molecular bases of construction, frequency of occurrence in populations) (literature review). *Klin Laborator Diagnostika*. 2002;(3):23-4. (In Russ.)
13. Brown CJ, Navarrete CV. Clinical relevance of the HLA system in blood transfusion. *Vox Sang*. 2011 Aug;101(2):93-105. doi: 10.1111/j.1423-0410.2011.01474.x
14. Suslova TA, Vavilov MN, Stashkevich DS, Beliaeva SV, Khromova EB, Evdokimov AV, i dr. Immunogenetic profile (HLA – A, HLA – B, HLA – C, HLA – DRB1, HLA – DQB1) of the Russian population of the Chelyabinsk region. *Gematologiya Transfuziologiya*. 2015;60(3):28-35. (In Russ.)
15. Zhiburt E, Madzaev S. Doctor's summary. *Med Gazeta*. 2013;21 iunია (№ 45):8-9. (In Russ.)
16. Mineeva NV, Krobinets II, Blinov MN, Kapustin SI. Antigens and antibodies to platelets (literature review). *Onkogematologiya*. 2013;(3):60-8. (In Russ.)
17. Kaufman RM, Djulbegovic B, Gernsheimer T, Kleinman S, Timmouth AT, Capocelli KE, et al. Platelet Transfusion: A Clinical Practice Guideline From the AABB. *Ann Intern Med*. 2015 Feb;162(3):205-13. doi: 10.7326/M14-1589
18. Maschan AA, Rumiantcev AG. Immune-mediated thrombocytopenia of newborns: differential diagnosis and principles of therapy (literature review). *Vopr Gematologii/onkologii Immunopatologii Pediatriti*. 2010;9(3):13-8. (In Russ.)
19. Cavanagh G, Dunn AN, Chapman CE, Metcalfe P. HPA genotyping with sequence-specific priming (PCR-SSP): a streamlined method for rapid routine investigation. *Transfus Med*. 1997 Mar;7(1):41-5. doi: 10.1046/j.1365-3148.1997.d01-72.x
20. Murphy M, Pamphilon D, Heddl NM. *Practical Transfusion Medicine*. Wiley-Blackwell; 2013. 576 p.
21. Ramazanova BA, Ismailova BM, Batyrbaeva DZh, Abdraimova AA, Ibraeva NK. Immunological aspects of donor blood transfusion. Posthemotransfusion reactions caused by allogeneic cells of donor blood. *Vestn KazNMU*. 2014;(4):254-8. (In Russ.)
22. Transplantation: donor selection [Elektronnyi resurs]. Baza znanii po biologii :[sait]. Rezhim dostupa: <http://humbio.ru/humbio/allerg/001b99eb.htm>. Data dostupa: 18.01.2021. (In Russ.)
23. Nance ST, Hsu S, Vassallo RR, Murphy S. Review: platelet matching for alloimmunized patients--room for improvement. *Immunohematology*. 2004;20(2):80-8.
24. Sachs UJ, Kiefel V, Kroll H, Bein G, Santoso S. Report on the 15th International Society of Blood Transfusion platelet immunology workshop. *Vox Sang*. 2012 Nov;103(4):343-51. doi: 10.1111/j.1423-0410.2012.01616.x
25. Rakhmani AF, Mikhailova EA, Dubinkin IV, Kalmykova OS, Galuziak VS, Troitckaia VV, i dr. Refractoriness to transfusion of donor platelets in patients with aplastic anemia and hemoblastosis. *Onkogematologiya*. 2018;13(2):62-72. (In Russ.)

Submitted 17.11.2020

Accepted 15.02.2021



**Сведения об авторах:**

Тилицкая Е.М. – аспирант, биолог лаборатории экспериментального производства, Республиканский научно-практический центр трансфузиологии и медицинских биотехнологий;  
Семенов Г.В. – к.м.н., врач лабораторной диагностики лаборатории HLA-типирования органов и тканей, Республиканский научно-практический центр трансфузиологии и медицинских биотехнологий;  
Дашкевич Э.В. – к.м.н., заведующая лабораторией трансфузиологии, Республиканский научно-практический центр трансфузиологии и медицинских биотехнологий.

**Information about authors:**

*Tilitskaya E.M. – postgraduate student, biologist of the II category of the Laboratory of Experimental Production, Republican Scientific and Practical Center for Transfusiology and Medical Biotechnologies;*  
*Semenov G.V. – Candidate of Medical Sciences, doctor of laboratory diagnosis of the Laboratory of HLA-Typing of Organs and Tissues, Republican Scientific and Practical Center for Transfusiology and Medical Biotechnologies;*  
*Dashkevich E.V. – Candidate of Medical Sciences, head of the Laboratory of Transfusiology, Republican Scientific and Practical Center for Transfusiology and Medical Biotechnologies.*

**Адрес для корреспонденции:** Республика Беларусь, 220053, г. Минск, Долгиновский тракт, 160, Республиканский научно-практический центр трансфузиологии и медицинских биотехнологий. E-mail: E.poleschuk1988@mail.ru – Тилицкая Екатерина Михайловна.

**Correspondence address:** Republic of Belarus, 220053, Minsk, 160 Dolginovsky tract, Republican Scientific and Practical Center for Transfusiology and Medical Biotechnologies. E-mail: E.poleschuk1988@mail.ru –Ekaterina M. Tilitskaya.

# ДИНАМИКА МОРФОЛОГИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЙ КОСТНОЙ ТКАНИ ЛАБОРАТОРНЫХ КРЫС, ПОЛУЧАВШИХ АТОРВАСТАТИН И А-КАЛЬЦИДОЛ В ТЕЧЕНИЕ 3-х И 6-ти МЕСЯЦЕВ

ОСОЧУК С.С., ЯКОВЛЕВА О.С., МАРЦИНКЕВИЧ А.Ф., КАРПЕНКО Е.А.

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

Вестник ВГМУ. – 2021. – Том 20, №1. – С. 31-39.

## THE DYNAMICS OF BONE TISSUE MORPHOLOGIC CHANGES IN LABORATORY RATS RECEIVING ATORVASTATIN AND A-CALCIDOL DURING THREE AND SIX MONTHS

ASOCHUK S.S., YAKOVLEVA O.S., MARTSINKEVICH A.F., KARPENKO E.A.

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

Vestnik VGMU. 2021;20(1):31-39.

### Резюме.

Среди наиболее значимых заболеваний человека 4-е место, после сердечно-сосудистых, онкологических заболеваний и сахарного диабета, занимает остеопороз.

Целью нашей работы было сравнение влияния 3- и 6-месячного введения аторвастатина (АТВ) и  $\alpha$ -кальцидола ( $\alpha$ -К) на морфологические показатели костной ткани лабораторных крыс.

Эксперимент проводился в течение 3-х и 6-ти месяцев на 240 лабораторных крысах, разделенных на 5 групп: интактные; «плацебо» (внутрижелудочное введение эквивалентного препаратам объема 1% крахмала); животные, внутрижелудочно получавшие только АТВ; животные, внутрижелудочно получавшие  $\alpha$ -К и животные, внутрижелудочно получавшие АТВ и  $\alpha$ -К. Эвтаназия осуществлялась под эфирным наркозом. Кусочки бедренной кости размером 0,5 см выпиливали в области проксимального метафиза, а ветви нижнечелюстной кости – диастемы. Зону роста пропитывали серебром по Лилли и окрашивали по Ванн-Гизону. Исследование гистосрезов проводили на микроскопе Olympus BX-40. Размер вновь образованной костной ткани, окрашенной солями серебра в черный цвет, измеряли с помощью программы ImageScore-M. Количество сосудов считали в 10 полях зрения с расчетом среднего значения. Статистический анализ данных проведен с помощью пакета прикладных программ R 3.6.3 с учетом соответствия закону нормального распределения и применением поправок на множественные исследования. Отличия считали статистически значимыми при  $p$ -значении  $<0,05$ .

В результате исследования сделаны следующие выводы:

1. Зона роста костной ткани бедренной кости увеличивается через 6 месяцев больше, чем через 3 месяца эксперимента.

2. Основные изменения в исследуемых показателях под влиянием вводимых лекарственных средств происходят уже через 3 месяца и остаются практически неизменными по сравнению с 3 месяцами к 6 месяцам эксперимента.

*Ключевые слова:* костная ткань,  $\alpha$ -кальцидол, аторвастатин, кость нижней челюсти, бедренная кость, остеопороз, остеогенез.

### Abstract.

Osteoporosis ranks fourth among the most significant human illnesses, after cardiovascular diseases, cancer and diabetes mellitus.

The aim of our work was to compare the effect of three- and six-month administration of atorvastatin and  $\alpha$ -calcidol on the morphologic parameters of the laboratory rats bone tissue.

The experiment was carried out during 3 and 6 months on 240 laboratory rats divided into five groups: intact animals, «placebo» animals, animals with the introduction of atorvastatin alone,  $\alpha$ -calcidol alone, atorvastatin and  $\alpha$ -calcidol intragastrically. Euthanasia was performed under ether anesthesia. Pieces of the femur 0.5 cm in size were cut out in the

proximal metaphysis area, and the branches of the mandibular bone were cut out in the diastema. The growth zone was impregnated with silver according to Lilly and stained according to Van Gieson.

The examination of histosections was carried out on the Olympus BX-40 microscope. The size of the newly formed bone tissue stained with silver salts in black was measured using the ImageScope-M software. The number of vessels was counted in 10 fields of view with the calculation of the average value. Statistical analysis of the data was carried out using the R 3.6.3 software package, taking into account compliance with the law of normal distribution and applying corrections for multiple studies. Differences were considered statistically significant at p-values <0.05.

As a result of the study the following conclusions have been made:

1. The growth zone of the femur bone tissue increases more after 6 months than after 3 months of the experiment.
2. The main changes in the studied parameters under the influence of the administered drugs occur already after 3 months and remain practically unchanged in comparison with 3 months to 6 months of the experiment.

*Key words:* bone tissue,  $\alpha$ -calcidol, atorvastatin, mandibular bone, femur, osteoporosis, osteogenesis.

Среди наиболее значимых заболеваний человека 4-е место, после сердечно-сосудистых, онкологических заболеваний и сахарного диабета, занимает остеопороз [1]. Остеопороз является дегенеративным заболеванием, наиболее часто встречающимся в пожилом возрасте и ассоциированным с атеросклерозом [2]. Ассоциация остеопороза с атеросклерозом обуславливает возможность использования одинаковых подходов к профилактике остеопороза и атеросклероза и в частности использования ингибиторов ключевого фермента синтеза холестерина  $\beta$ -окси- $\beta$ -метил-кофермент-А-редуктазы (ОМГ-редуктазы) – статинов. В научной литературе описана способность статинов стимулировать остеогенез за счет активации остеобластов и ингибирования остеокластов [3]. Однако способность статинов позитивно влиять на костную ткань неоднозначна. Неоднозначность может быть обусловлена, в том числе, способностью статинов снижать содержание тестостерона в крови [4], который, в свою очередь, контролирует уровень активной формы витамина D в крови через стимуляцию  $1\alpha$ -гидроксилазы почек [5]. В связи с этим оправданным является применение совместно со статинами продукта реакции катализируемой этим ферментом –  $1$  гидроксиколекальциферола ( $\alpha$ -кальцидол). Учитывая, что статины должны приниматься длительное время, значительный интерес представляет оценка их совместного с  $\alpha$ -кальцидолом действия на костную ткань в различные промежутки времени.

Известно, что максимальная продолжительность жизни лабораторной крысы колеблется от 3-х до 5-и лет. 1 месяц жизни крысы равен 3-4 годам жизни человека, 2 месяца — 7-8 годам и 3 месяца — 12-13 годам [6]. Учитывая, что продолжительность приема статинов исчисляется года-

ми и даже десятилетиями, целесообразно изучение длительного приема статинов и  $\alpha$ -кальцидола в эквиваленте 10-20 годам.

Учитывая вышеизложенное, целью нашей работы было сравнение влияния 3- и 6-месячного введения аторвастатина (АТВ) и  $\alpha$ -кальцидола ( $\alpha$ -К) на морфологические показатели костной ткани лабораторных крыс.

## Материал и методы

Работа финансировалась Государственной программой научных исследований «Фундаментальные и прикладные науки – медицине» (№ ГР 20190142 от 26.02.2019). Эксперимент проводился в течение 3-х и 6-ти месяцев на 240 неимбранных лабораторных крысах-самцах, разделенных на 5 групп: 1 группа – интактные животные; 2 группа – животные плацебо (внутрижелудочное введение 1% крахмала); 3 группа – внутрижелудочное введение АТВ в дозе 10 мг/кг массы тела в 1% крахмале; 4 группа – внутрижелудочное введение  $\alpha$ -К в дозе 0,1 мкг/кг в 1% крахмале; 5 группа – внутрижелудочное введение АТВ в дозе 10 мг/кг массы тела совместно с  $\alpha$ -К в дозе 0,1 мкг/кг в 1% крахмале. Животные содержались в условиях вивария Витебского государственного медицинского университета на сбалансированном зерновом корме. Эвтаназия животных осуществлялась декапитацией под эфирным наркозом в утренние часы, через сутки после последнего введения лекарственных средств. Непосредственно после эвтаназии извлекали и очищали от мягких тканей правую бедренную и правую часть нижнечелюстной костей. Кусочки бедренной кости размером 0,5 см выпиливали в области проксимального метафиза, а ветви нижнечелюстной кости – диастемы (промежутка

между резцами и молярами). Фиксацию костей осуществляли в 10%-м растворе нейтрального формалина 48 часов. Для определения отличий между предшествующей и вновь образованной минерализованной костной тканью кусочки костной ткани импрегнировали серебром по Лилли [7]. Декальцинация костной ткани проводилась 10% р-ром ЭДТА (рН=7,0) [8]. Обезвоживание костей осуществляли на автоматическом процессоре Microm STP-120, а уплотнение путем заливки в парафин при помощи аппарата ЕС – 350 по общепринятым методикам [9]. Срезы (толщиной 4-5 мкм) образцов ткани изготавливались на роторном микротоме Leica RM 2125 и доокрашивались в аппарате Microm HMS-170 по Ван-Гизону [7]. Исследование гистосрезов проводили на микроскопе Olympus BX-40, (окуляр x10, объективы x20, 60), оснащенном цифровой камерой. Размер вновь образованной костной ткани, окрашенной солями серебра в черный цвет, измеряли с помощью программы ImageScore-M в гистосрезках бедренной кости грызунов со стороны пери- и эндооста, а в нижней челюсти – преддверия рта и периодонта. Количество кровеносных сосудов в срезах костной ткани подсчитывали в 10 полях зрения с последующим расчетом среднего показателя.

Статистический анализ данных проведен с помощью пакета прикладных программ R 3.6.3. Распределение исследуемых показателей оценивали по критерию Шапиро-Уилка. При условии наличия гауссовского распределения, для дальнейшего анализа использовались параметрические методы статистики, в противном случае – непараметрические методы. Парное сравнение осуществляли на основании критерия Стьюдента или критерия Вилкоксона-Манна-Уитни. Множественное сравнение выполняли при помощи ANOVA (ANalysis of VAriance, дисперсионного анализа) или Н-критерия Краскела-Уоллиса. Анализ post hoc выполняли согласно критерия Тьюки или критерия Н-критерия Краскела-Уоллиса в модификации Данна с поправкой на множественные сравнения по методу Бенджамини-Иекутиели [10]. Размер эффекта оценивали при помощи g-Хеджеса [11]. Отличия считали статистически значимыми при р-значении <0,05.

## Результаты и обсуждение

Оценка распределения показателя размера вновь образованной костной ткани с эндо-

стальной поверхности в бедренной кости у экспериментальных животных через 3 и 6 месяцев эксперимента показала статистически значимое отклонение от Гауссовского распределения (табл. 1). Дальнейшая оценка различий с использованием критерия Вилкоксона, показала, что через 6 месяцев размеры вновь образованной костной ткани с эндоостальной поверхности в бедренной кости статистически значимо увеличивались более чем в 2 раза ( $p < 0,0001$ ).

У животных группы «плацебо» распределение изучаемого показателя не отличалось от нормального. Использованный критерий Стьюдента продемонстрировал, как и в контрольной группе, наличие статистически значимого увеличения зоны роста со стороны эндооста бедренной кости (табл. 1).

Применение ATV в течение 6 месяцев не повлияло на размеры вновь образованной костной ткани со стороны эндоостальной поверхности бедренной кости грызунов, по сравнению с животными 3-месячного эксперимента (табл. 1). Однако учитывая, что величина вновь образованной костной ткани со стороны эндоостальной поверхности бедренной кости животных, принимавших ATV 3 месяца, была больше, чем в контрольной группе ( $p = 0,033$ ), можно заключить, что ATV увеличил зону роста со стороны эндооста лишь при приеме до 3-х месяцев. Дальнейший (до 6 месяцев) прием ATV не оказывает дополнительного влияния на зону роста костной ткани бедренной кости грызунов со стороны эндооста.

В группе животных, принимавших  $\alpha$ -К, как и в контрольных группах, отмечен статистически значимый рост зоны роста костной ткани бедра со стороны эндооста. Учитывая, что изучаемый показатель значимо ( $p < 0,05$ ) был выше, по сравнению с животными контрольной группы, можно заключить, что выявленные отличия обусловлены совместным влиянием временного фактора и  $\alpha$ -К.

В группе животных, получавших совместно ATV и  $\alpha$ -К, так же выявлено статистически значимое увеличение изучаемого показателя через 6 месяцев по сравнению с 3-месячным приемом лекарственных средств. При этом в первый период исследования отмечено статистически значимое увеличение изучаемого показателя по сравнению с животными контрольной и группы «плацебо». Учитывая вышесказанное, можно заключить, что совместное применение ATV и  $\alpha$ -К увеличивает

Таблица 1 – Размеры вновь образованной костной ткани со стороны эндоостальной поверхности бедренной кости грызунов, мкм

	3 месяца	6 месяцев
Интактные		
Me Q <sub>1</sub> Q <sub>3</sub>	19,51 (17,30; 23,07)	43,64 (31,90; 66,44) <sup>1</sup>
Критерий Шапиро-Уилка P	0,5450	0,0209
Плацебо		
Me Q <sub>1</sub> Q <sub>3</sub>	21,52 (20,19; 26,16)	36,90 (33,16; 41,41) <sup>2</sup>
Критерий Шапиро-Уилка P	0,0578	0,9409
ATV		
Me Q <sub>1</sub> Q <sub>3</sub>	35,47 (24,02; 37,62)*	41,37 (33,49; 48,56)
Критерий Шапиро-Уилка P	0,7907	0,0130
$\alpha$ -K		
Me Q <sub>1</sub> Q <sub>3</sub>	35,69 (30,23; 40,48)*	51,81 (40,17; 72,40) <sup>3</sup>
Критерий Шапиро-Уилка P	0,0211	0,6259
ATV+ $\alpha$ -K		
Me Q <sub>1</sub> Q <sub>3</sub>	30,23 (26,31; 38,41)	52,72 (44,16; 66,06) <sup>4**</sup>
Критерий Шапиро-Уилка P	0,1815	0,2551

Примечание: 1 –  $p < 0,0001$  (3 мес., 6 мес.), 2 –  $p < 0,001$  (3 мес., 6 мес.), 3 –  $p = 0,0251$  (3 мес., 6 мес.), 4 –  $p = 0,024$  (3 мес., 6 мес.); \* – по сравнению с интактными  $p < 0,05$ ; \*\* – по сравнению с «плацебо»  $p = 0,019$ .

Таблица 2 – Размеры зоны роста костной ткани в бедренной кости крыс со стороны периоста, мкм

	3 месяца	6 месяцев
Интактные		
Me Q <sub>1</sub> Q <sub>3</sub>	20,72 (19,02; 26,17)	40,82 (37,63; 50,45) <sup>1</sup>
Критерий Шапиро-Уилка P	0,1765	0,0011
Плацебо		
Me Q <sub>1</sub> Q <sub>3</sub>	26,91 (23,92; 32,04)	36,69 (34,59; 40,50) <sup>2</sup>
Критерий Шапиро-Уилка P	0,9016	0,8529
ATV		
Me Q <sub>1</sub> Q <sub>3</sub>	31,17 (26,21; 40,07)*	50,83 (41,80; 61,26) <sup>3**</sup>
Критерий Шапиро-Уилка P	0,7534	0,8274
$\alpha$ -K		
Me Q <sub>1</sub> Q <sub>3</sub>	23,21 (20,98; 24,28)	57,37 (53,55; 62,42) <sup>4</sup>
Критерий Шапиро-Уилка P	0,7321	0,6939
ATV+ $\alpha$ -K		
Me Q <sub>1</sub> Q <sub>3</sub>	34,75 (26,38; 38,75)*	54,52 (39,83; 61,82) <sup>5**</sup>
Критерий Шапиро-Уилка P	0,3434	0,2549

Примечание: 1 –  $p < 0,001$  (3 мес., 6 мес.); 2 –  $p = 0,0016$  (3 мес., 6 мес.); 3-  $p = 0,008$  (3 мес., 6 мес.); 4 –  $p < 0,001$ ; 5 –  $p < 0,001$  (3 мес., 6 мес.); \* – по сравнению с интактными  $p < 0,05$ ; \*\* – по сравнению с «плацебо»  $p = 0,0024$ , 0,004 (3 мес., 6 мес.).

зону роста бедренной кости со стороны эндооста вне зависимости от фактора времени.

Сравнение величины зоны роста со стороны периоста через 3 и 6 месяцев приема лекарственных средств (ЛС) показало (табл. 2) статистически значимый рост изучаемого показателя во всех группах экспериментальных животных. Учитывая, что у крыс, получавших ATV и ATV

с  $\alpha$ -K, изучаемый показатель был статистически значимо выше по сравнению с контролем (3 месяца) и «плацебо» (6 месяцев), можно заключить, что выявленное увеличение размера вновь образованной костной ткани в бедренной кости со стороны периоста обусловлено введением ЛС, а не временным фактором.

Исходя из вышеизложенного можно сде-

Таблица 3 – Размеры зоны роста костной ткани в нижней челюсти крыс со стороны периодонта, мкм

	3 месяца	6 месяцев
Интактные		
Me Q <sub>1</sub> Q <sub>3</sub>	22,70 (19,14; 28,06)	43,06 (39,19; 44,80) <sup>1</sup>
Критерий Шапиро-Уилка Р	0,1237	0,3417
Плацебо		
Me Q <sub>1</sub> Q <sub>3</sub>	22,59 (21,49; 24,14)	41,22 (35,49; 45,03) <sup>2</sup>
Критерий Шапиро-Уилка Р	0,5436	0,4865
АТV		
Me Q <sub>1</sub> Q <sub>3</sub>	26,86 (23,59; 30,00)	38,25 (31,08; 42,61) <sup>3</sup>
Критерий Шапиро-Уилка Р	0,7255	0,9910
α-К		
Me Q <sub>1</sub> Q <sub>3</sub>	26,79 (25,78; 27,91)	31,12 (25,27; 39,39) <sup>(**)</sup>
Критерий Шапиро-Уилка Р	0,2222	0,1214
АТV+α-К		
Me Q <sub>1</sub> Q <sub>3</sub>	29,58 (27,55; 32,15) <sup>**</sup>	34,10 (31,88; 41,32) <sup>4</sup>
Критерий Шапиро-Уилка Р	0,0932	0,6214

Примечание: 1 –  $p < 0,001$  (3 мес., 6 мес.); 2 –  $p < 0,001$  (3 мес., 6 мес.); 3 –  $p = 0,0159$  (3 мес., 6 мес.); 4 –  $p = 0,0025$  (3 мес., 6 мес.); \* – по сравнению с интактными  $p < 0,0052$ ; \*\* – по сравнению с «плацебо»  $p = 0,0382, 0,0386$  (3 мес., 6 мес.).

лать вывод: за 3 месяца наблюдений отмечается увеличение зоны роста костной ткани в бедренной кости, при этом введение АТV и α-К потенцирует этот процесс.

Анализ влияния ЛС на размеры вновь образованной костной ткани нижнечелюстной кости со стороны периодонта показало, что через 6 месяцев у животных всех экспериментальных групп, за исключением животных, получавших α-К, данный показатель был статистически достоверно больше, чем у животных 3-месячного эксперимента (табл. 3). Однако у грызунов, получавших в течение 6 месяцев α-К, вышеуказанный показатель был статистически значимо меньше, чем у животных интактной и группы «плацебо» ( $p = 0,0382$  и  $0,0386$  соответственно). Совместное применение АТV и α-К увеличивало зону роста костной ткани в нижней челюсти со стороны периодонта через 3 месяца их введения по сравнению с группой «плацебо».

Таким образом, совместное применение АТV и α-К оказывает стимулирующее действие на образование костной ткани со стороны периодонта в нижней челюсти крыс через 3 месяца их ежедневного введения, что свидетельствует об интенсификации ремоделирования костной ткани [12]. Введение α-К в течение 6 месяцев снижает активность ремоделирования костной ткани челюсти.

Анализ величины зоны роста костной ткани со стороны преддверия рта показал увели-

чение данного показателя в группах интактных животных, получавших АТV и получавших АТV вместе с α-К ( $p = 0,0016, 0,0282$  и  $< 0,001$  соответственно) (табл. 4). Отсутствие изменений у крыс в группе «плацебо» говорит о наличии стрессорного воздействия на образование костной ткани в нижней челюсти с вестибулярной поверхности. В свою очередь, отсутствие изменений в группе животных, получавших АТV и α-К, обусловлено способностью этих лекарственных средств увеличивать данный показатель по сравнению с контрольными и животными группы «плацебо» через 3 месяца их введения. Полученные изменения свидетельствуют о способности АТV и α-К увеличивать моделирование костной ткани челюсти через 3 месяца их совместного введения.

Оценка влияния ЛС на количество сосудов в костной ткани бедренной кости показало, что стрессирование животных в течение 6 месяцев снижало ( $p = 0,044$ ) количество сосудов в поле зрения по сравнению с аналогичным показателем 3-месячного эксперимента (табл. 5). Данный результат можно расценить как негативное действие длительного стресса. Введение АТV в течение 6 месяцев не оказало позитивного влияния на изучаемый показатель. Как и в предыдущем случае, сохранялось негативное влияние длительного стрессирования животных внутрижелудочным введением зонда ( $p = 0,019$ ). Введение α-К устраняло данный негативный эффект, по сравнению

с животными 3-месячного эксперимента, однако снижало количество сосудов в костной ткани бедра по сравнению с интактными крысами ( $p=0,024$ ). Совместное введение ATV и  $\alpha$ -К уже через 3 месяца введения увеличивало количество сосудов в поле зрения на 38,5% по сравнению с интактными грызунами ( $p=0,0086$ ). Эффект сохранялся и через 6 месяцев введения комбинации

препаратов по сравнению с животными группы «плацебо» ( $p<0,001$ ) и крысами, которым вводили только  $\alpha$ -К и только ATV ( $p<0,001$  и  $0,0028$  соответственно).

Таким образом, исходя из представленных результатов, можно заключить, что 6-месячное стрессирование животных внутрижелудочным введением зонда уменьшает количество сосудов

Таблица 4 – Размер зоны роста костной ткани в нижней челюсти грызунов с вестибулярной поверхностью, мкм

	3 месяца	6 месяцев
Интактные		
Me Q <sub>1</sub> Q <sub>3</sub>	29,31 (22,06; 34,08)	44,70 (36,55; 47,58) <sup>1</sup>
Критерий Шапиро-Уилка Р	0,9629	0,4007
Плацебо		
Me Q <sub>1</sub> Q <sub>3</sub>	29,32 (25,82; 31,27)	43,03 (29,82; 49,72)
Критерий Шапиро-Уилка Р	0,2047	0,4368
ATV		
Me Q <sub>1</sub> Q <sub>3</sub>	37,98 (34,68; 41,71)	48,83 (41,74; 50,88) <sup>2</sup>
Критерий Шапиро-Уилка Р	0,9492	0,0045
$\alpha$ -К		
Me Q <sub>1</sub> Q <sub>3</sub>	28,71 (25,45; 31,88)	54,25 (41,10; 57,46) <sup>3</sup>
Критерий Шапиро-Уилка Р	0,9360	0,2212
ATV+ $\alpha$ -К		
Me Q <sub>1</sub> Q <sub>3</sub>	43,70 (41,85; 49,73)*(**)	51,62 (47,70; 56,01)
Критерий Шапиро-Уилка Р	0,2234	0,9371

Примечание: 1 –  $p=0,0016$  (3 мес., 6 мес.); 2 –  $p=0,0282$  (3 мес., 6 мес.); 3 –  $p<0,001$  (3 мес., 6 мес.); \* – по сравнению с интактными  $p=0,0069$ ; \*\* – по сравнению с «плацебо»  $p=0,002$ .

Таблица 5 – Количество сосудов в костной ткани бедренной кости крыс, мкм

	3 месяца	6 месяцев
Интактные		
Me Q <sub>1</sub> Q <sub>3</sub>	5,70 (4,20; 6,82)	6,70 (6,20; 7,05)
Критерий Шапиро-Уилка Р	0,2493	0,9647
Плацебо		
Me Q <sub>1</sub> Q <sub>3</sub>	6,40 (5,97; 6,95)	5,50 (4,80; 6,20) <sup>1*</sup>
Критерий Шапиро-Уилка Р	0,5845	<0,001
ATV		
Me Q <sub>1</sub> Q <sub>3</sub>	6,60 (6,12; 7,73)	5,50 (4,60; 6,35) <sup>2</sup> (****)
Критерий Шапиро-Уилка Р	0,7897	0,3524
$\alpha$ -К		
Me Q <sub>1</sub> Q <sub>3</sub>	5,30 (4,60; 5,50)	5,40 (5,20; 5,70)*
Критерий Шапиро-Уилка Р	0,8274	0,4440
ATV+ $\alpha$ -К		
Me Q <sub>1</sub> Q <sub>3</sub>	7,90 (7,35; 8,40)*	7,70 (6,60; 8,30)** (***)
Критерий Шапиро-Уилка Р	0,7610	0,4410

Примечание: 1 –  $p=0,044$  (3 и 6 мес.); 2 –  $p=0,019$  (3 и 6 мес.); 3 –  $p<0,001$  (3 и 6 мес.); 3 месяца – \* по сравнению с интактными  $p=0,0086$ ; 6 месяцев – \* по сравнению с интактными  $p=0,024$ ,  $0,0117$  (3 мес., 6 мес.); \*\* – по сравнению с «плацебо»  $p<0,001$ ; \*\*\* – по сравнению с  $\alpha$ -К  $p<0,001$ ; \*\*\*\* – по сравнению с ATV+ $\alpha$ -К  $p=0,0028$ .

в костной ткани бедренной кости. Введение  $\alpha$ -К снижает стрессорное воздействие, а совместное применение  $\alpha$ -К и ATV обладает не только антистрессорной активностью, но и способностью увеличивать количество сосудов в костной ткани бедренной кости экспериментальных грызунов.

Анализ данных о влиянии ЛС на количество сосудов в костной ткани нижней челюсти показал, как и в случае с бедренной костью, что стрессирование животных внутрижелудочным введением зонда уменьшало количество сосудов в поле зрения ( $p < 0,001$ ) (табл. 6). Введение ATV, а также ATV +  $\alpha$ -К не снизило стрессорное воздействие, оставляя количество сосудов статистически значимо сниженными по сравнению с животными 3-месячного эксперимента. Отдельное введение  $\alpha$ -К крысам устраняло негативное действие стресса, в том числе увеличивая количество сосудов по сравнению с животными группы «плацебо» ( $p = 0,0038$ ).

Таким образом, полученные данные позволяют заключить, что стрессирование животных в течение 6 месяцев внутрижелудочным введением зонда оказывает негативное действие на количество сосудов в костной ткани нижней челюсти, а применение  $\alpha$ -К устраняет данное влияние.

## Заключение

1. Размеры вновь образованной костной ткани в бедренной и нижнечелюстной костях

животных как со стороны эндооста/периодонта, так и со стороны периоста/преддверия увеличиваются к окончанию эксперимента по сравнению с 3-месячным исследованием.

2. Введение ATV стимулирует увеличение размеров костной ткани со стороны эндо- и периостальной поверхностей бедренной кости грызунов уже в первый период исследования, не оказывая дополнительного влияния через 6 месяцев введения ЛС.

3. Совместное введение ATV и  $\alpha$ -К увеличивает размеры костной ткани в бедренной кости через 3 месяца их введения и остается неизменным через 6 месяцев введения этой комбинации ЛС.

4. Совместное применение ATV и  $\alpha$ -К стимулирует увеличение зоны роста костной ткани в нижней челюсти со стороны периодонта через 3 месяца, но не через 6 месяцев введения комбинации ЛС.

5. Длительное стрессирование животных 6-месячным внутрижелудочным введением зонда уменьшает количество сосудов в костной ткани бедра и нижней челюсти.

6. Введение  $\alpha$ -К снижает активность стрессового воздействия на количество сосудов костной ткани бедра и нижней челюсти животных, а совместно введенные  $\alpha$ -К и ATV обладают не только антистрессорной активностью, но и способностью увеличивать количество сосудов в костной ткани бедренной кости через 3 месяца их введения.

Таблица 6 – Количество сосудов в костной ткани нижней челюсти крыс, мкм

	3 месяца	6 месяцев
Интактные		
Me Q <sub>1</sub> Q <sub>3</sub>	3,65 (3,20; 4,20)	3,20 (2,65; 4,35)
Критерий Шапиро-Уилка P	0,1449	0,3600
Плацебо		
Me Q <sub>1</sub> Q <sub>3</sub>	4,35 (3,70; 5,30)	2,60 (2,05; 3,53) <sup>1</sup>
Критерий Шапиро-Уилка P	0,3256	0,3388
ATV		
Me Q <sub>1</sub> Q <sub>3</sub>	5,10 (4,70; 5,73)*	2,80 (2,60; 3,85) <sup>2</sup>
Критерий Шапиро-Уилка P	0,8435	0,0571
$\alpha$ -К		
Me Q <sub>1</sub> Q <sub>3</sub>	3,70 (3,15; 5,10)	4,05 (3,50; 4,53)**
Критерий Шапиро-Уилка P	0,1321	0,7413
ATV+ $\alpha$ -К		
Me Q <sub>1</sub> Q <sub>3</sub>	5,30 (4,92; 5,73)*	3,00 (2,70; 3,40) <sup>3</sup>
Критерий Шапиро-Уилка P	0,6186	0,6265

Примечание: 1 –  $p < 0,001$  (3 мес., 6 мес.); 2 –  $p < 0,001$  (3 мес., 6 мес.); 3 –  $p < 0,001$  (3 мес., 6 мес.); \* – по сравнению с контролем  $p = 0,0036$ , 0,028 (3 мес., 6 мес.); \*\* – по сравнению с «плацебо»  $p = 0,0038$ .



**Источники финансирования:** Работа выполнялась в рамках задания Государственной программы научных исследований «Фундаментальные и прикладные науки – медицине» (№ ГП 20190142 от 26.02.2019).

**Sources of financing:** The research was conducted within the frames of the theme task of State Research Programs (GPN) «Basic and applied sciences to medicine» (№GR 20190142 of 26.02.2019).

## Литература

1. Пасиешвили, Л. М. Остеопороз – безмолвный костный «вор» / Л. М. Пасиешвили // Восточноевроп. журн. внутр. и семейн. мед. – 2015. – № 1. – С. 16–24.
2. Масенко, В. Л. Атерокальциноз и остеопороз. Связи и условия взаимного влияния. Обзор / В. Л. Масенко, С. Е. Семенов, А. Н. Коков // Комплекс. проблемы сердеч.-сосудистых заболеваний. – 2017. – Т. 6, № 2. – С. 9–102.
3. Шварц, Г. Я. Молекулярно-биологические основы создания новых лекарственных средств для лечения остеопороза: II. Статины и формирование кости / Г. Я. Шварц // Остеопороз и остеопатии. – 2003. – № 3. – С. 17–20.
4. Буянова, С. В. Влияние статинов на гормональный спектр крови и содержание холестерина в надпочечниках белых лабораторных крыс / С. В. Буянова, С. С. Осочук // Вестн. ВГМУ. – 2014. – Т. 13, № 1. – С. 31–37.

5. Associations between testosterone, bone mineral density, vitamin D and semen quality in fertile and infertile Chinese men / B. Yang [et al.] // Int. J. Androl. – 2012 Dec. – Vol. 35, N 6. – P. 783–792.
6. Оценка биохимических показателей потомства самок крыс, в различные возрастные периоды, получавших высокобелковый, обогащенный кальцием и витамином D, молочный продукт / Т. П. Бондарь [и др.] // Наука. Инновации. Технологии. – 2016. – № 1. – С. 157–166.
7. Лилли, Ф. Патогистологическая техника и практическая гистохимия / Ф. Лилли ; под ред. В.В. Португалова. – Москва : Мир, 1969. – 645 с.
8. Callis, G. Decalcification of Bone: Literature Review and Practical Study of Various Decalcifying Agents. Methods. and Their Effects on Bone Histology / G. Callis, D. Sterchi // J. Histotechnol. – 1998. – Vol. 21, N 1. – P. 49–58.
9. Меркулов, Г. А. Курс патологистологической техники / Г. А. Меркулов. – Изд. 5-е, испр. и доп. – Ленинград : Медицина, 1969. – 423 с.
10. Benjamini, Y. The control of the false discovery rate in multiple testing under dependency / Y. Benjamini, D. Yekutieli // Ann. Statist. – 2001 Aug. – Vol. 29, N 4. – P. 1165–1188.
11. Hedges, L. Statistical Methods for Meta-Analysis / L. Hedges, I. Olkin. – Academic Press, 2014. – 369 p.
12. Langdahl, B. Bone modeling and remodeling: potential as therapeutic targets for the treatment of osteoporosis / B. Langdahl, S. Ferrari, D. W. Dempster // Ther. Adv. Musculoskelet Dis. – 2016 Dec. – Vol. 8, N 6. – P. 225–235.

Поступила 14.01.2021 г.

Принята в печать 15.02.2021 г.

## References

1. Pasieshvili LM. Osteoporosis - the silent bone thief. Vostochnoevroп Zhurn Vnutr Semein Med. 2015;(1):16-24. (In Russ.)
2. Masenko VL, Semenov SE, Kokov AN. Atherocalcinosis and osteoporosis. Relations and conditions of mutual influence. Overview. Kompleks Problemy Serdech-sosudistykh Zabolevanii. 2017;6(2): 9-102. (In Russ.)
3. Shvartc GIa. Molecular biological basis for the creation of new drugs for the treatment of osteoporosis: II. Statins and bone formation. Osteoporoz Osteopatii. 2003;(3):17-20. (In Russ.)
4. Buianova SV, Osochuk SS. Effect of statins on the hormonal spectrum of blood and cholesterol content in the adrenal glands of white laboratory rats. Vestn VGMU. 2014;13(1):31-7. (In Russ.)
5. Yang B, Sun H, Wan Y, Wang H, Qin W, Yang L, Zhao H, Yuan J, Yao B. Associations between testosterone, bone mineral density, vitamin D and semen quality in fertile and infertile Chinese men. Int J Androl. 2012 Dec;35(6):783-92. doi: 10.1111/j.1365-2605.2012.01287.x
6. Bondar TP, Svetlitskii KS, Svetlitskaia IuS, Aseeva OA. Evaluation of the biochemical parameters of the offspring of

female rats at different age periods receiving a high-protein, calcium and vitamin D-fortified dairy product. Nauka Innovatsii Tekhnologii. 2016;(1):157-66. (In Russ.)

7. Lilli F; Portugalova VV, red. Histopathological technique and practical histochemistry. Moscow, RF: Mir; 1969. 645 p. (In Russ.)
8. Callis G, Sterchi D. Decalcification of Bone: Literature Review and Practical Study of Various Decalcifying Agents. Methods. and Their Effects on Bone Histology. J Histotechnol. 1998;21(1):49-58. doi: 10.1179/his.1998.21.1.49
9. Merkulov GA. Course of pathologic-histological technique. Izd 5-e, ispr i dop. Leningrad, RF: Meditsina; 1969. 423 p. (In Russ.)
10. Benjamini Y, Yekutieli D. The control of the false discovery rate in multiple testing under dependency. Ann Statist. 2001 Aug;29(4):1165-88.
11. Hedges L, Olkin I. Statistical Methods for Meta-Analysis. Academic Press; 2014. 369 p.
12. Langdahl B, Ferrari S, Dempster DW. Bone modeling and remodeling: potential as therapeutic targets for the treatment of osteoporosis. Ther Adv Musculoskelet Dis. 2016 Dec;8(6):225-235. doi: 10.1177/1759720X16670154

Submitted 14.01.2021

Accepted 15.02.2021

**Сведения об авторах:**

Осочук С.С. – д.м.н., профессор, заведующий научно-исследовательской лабораторией, Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет,

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2074-3832>;

Яковлева О.С. – старший преподаватель кафедры стоматологии детского возраста и ортодонтии с курсом ФПК и ПК, Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет,

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6833-5005>;

Марцинкевич А.Ф. – к.б.н., доцент кафедры общей и клинической биохимии с курсом ФПК и ПК, Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет,

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3655-4489>;

Карпенко Е.А. – к.вет.н., старший научный сотрудник научно-исследовательской лаборатории, Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет,

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4099-8405>.

**Information about authors:**

*Asochuk S.S. – Doctor of Medical Sciences, professor, head of the Scientific-Research Laboratory, Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University,*

*ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2074-3832>;*

*Yakovleva O.S. – senior lecturer of the Chair of Pediatric Dentistry & Orthodontics with the course of the Faculty for Advanced Training & Retraining, Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University,*

*ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6833-5005>;*

*Martsinkevich A.F. – Candidate of Biological Sciences, associate professor of the Chair of General & Clinical Biochemistry with the course of the Faculty for Advanced Training & Retraining, Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University,*

*ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3655-4489>;*

*Karpenko E.A. – Candidate of Veterinary Sciences, senior research officer of the Scientific-Research Laboratory, Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University,*

*ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4099-8405>.*

**Адрес для корреспонденции:** Республика Беларусь, 210009, г. Витебск, пр. Фрунзе, 27, Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет, кафедра стоматологии детского возраста и ортодонтии с курсом ФПК и ПК. E-mail: [olga.lobkova88@gmail.com](mailto:olga.lobkova88@gmail.com) – Яковлева Ольга Святославна.

**Correspondence address:** Republic of Belarus, 210009, Vitebsk, 27 Frunze ave., Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University, Chair of Pediatric Dentistry & Orthodontics with the course of the Faculty for Advanced Training & Retraining. E-mail: [olga.lobkova88@gmail.com](mailto:olga.lobkova88@gmail.com) – Olga S. Yakovleva.

## ИССЛЕДОВАНИЕ СОСТОЯНИЯ ФОСФОЛИПИДНОГО БИСЛОЯ ЦИТОПЛАЗМАТИЧЕСКИХ МЕМБРАН ЛЕЙКОЦИТОВ КРЫС ПРИ ПЕРОРАЛЬНОМ УПОТРЕБЛЕНИИ ПИЩЕВОЙ ДОБАВКИ E407a

ТКАЧЕНКО А.С.<sup>1</sup>, ПОСОХОВ Е.А.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Харьковский национальный медицинский университет, г. Харьков, Украина

<sup>2</sup>Национальный технический университет «Харьковский политехнический институт», г. Харьков, Украина

Вестник ВГМУ. – 2021. – Том 20, №1. – С. 40-45.

## THE STUDY OF THE PHOSPHOLIPID BILAYER STATE OF CELL MEMBRANES IN LEUKOCYTES OF RATS AFTER ORAL CONSUMPTION OF E407a FOOD ADDITIVE

TKACHENKO A.S.<sup>1</sup>, POSOKHOV Y.A.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Kharkiv National Medical University, Kharkiv, Ukraine

<sup>2</sup>National Technical University «Kharkiv Polytechnic Institute», Kharkiv, Ukraine

Vestnik VGMU. 2021;20(1):40-45.

---

### Резюме.

Целью работы было оценить влияние перорально вводимого полуочищенного каррагинана (E407a) на гидрофобный участок фосфолипидного бислоя клеточных мембран лейкоцитов периферической крови.

Материал и методы. Флуоресцентный зонд (2-фенилфенантро[9,10-d]-1,3-оксазол) был использован для оценки состояния липидного бислоя мембран лейкоцитов, полученных от 8 взрослых крыс-самок линии WAG, которые перорально получали полуочищенный каррагинан в дозировке 140 мг на кг веса в течение 2 недель, и 8 контрольных животных.

Результаты. В ходе проведения работы установлено, что заметных изменений формы спектров флуоресценции зонда в ответ на пероральное введение полуочищенного каррагинана не наблюдалось. Это указывает на то, что пероральный прием E407a не вызывает изменений протонодонорной способности среды в липидных мембранах лейкоцитов в области расположения зонда. Уменьшение интенсивности флуоресценции зонда у крыс, которым перорально вводили пищевую добавку E407a, связано с уменьшением количества молекул зонда, которые связались с мембранами в течение 1 ч инкубации.

Заключение. Пероральное употребление полуочищенного каррагинана не вызывает изменений гидратации гидрофобного участка фосфолипидного бислоя мембран лейкоцитов.

*Ключевые слова: флуоресцентные зонды, упорядоченность мембраны, гидратация мембраны, лейкоциты.*

### Abstract.

Objectives. To assess the influence of orally administered semi-refined carrageenan (E407a) on the hydrophobic region of phospholipid bilayer in cell membranes of circulating white blood cells.

Material and methods. The fluorescent probe (2-phenyl-phenanthro[9,10-d]-1,3-oxazole) was used to evaluate the state of lipid bilayer in leukocytes obtained from 8 female adult WAG rats orally exposed to semi-refined carrageenan at a dose of 140 mg per kg of weight during 2 weeks, and 8 control animals.

Results. No noticeable changes in the shape of the probe fluorescence spectrum were observed in response to oral administration of semi-refined carrageenan. This indicates that oral intake of E407a causes no changes in the proton-donor ability of the medium in the lipid membranes of leukocytes in the region where the probe is located. A reduction in the emission intensity of the probe, attributed to the decrease in the number of the probe molecules bound to membranes during 1 h of incubation, was detected in the rats which were orally administered E407a food additive.

Conclusions. Oral consumption of semi-refined carrageenan doesn't cause any changes in the membrane hydration of the hydrophobic region of leukocyte phospholipid bilayer.

*Key words: fluorescent probes, membrane order, membrane hydration, white blood cells.*

Хронические воспалительные заболевания кишечника (ХВЗК), а именно болезнь Крона (БК) и язвенный колит (ЯК), характеризуются развитием воспалительного процесса на протяжении всего желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) или его части. При ЯК воспаление ограничено слизистой и подслизистой оболочками толстого кишечника, тогда как при БК воспаление распространяется на всю толщину стенки кишечника, поражая слизистую, подслизистую, мышечную и серозную оболочки как тонкого, так и толстого кишечника [1]. Заболеваемость и распространенность БК и ЯК продолжает расти. В 2017 году в мире было зарегистрировано около 6,8 миллиона случаев ХВЗК.

Этиология ХВЗК до сих пор полностью не изучена. Однако считается, что заболевание развивается на фоне генетической предрасположенности под действием определенных факторов окружающей среды. Метод исследования общегеномных ассоциаций (GWAS) значительно улучшил наше понимание этиологии и патогенеза ХВЗК, позволив идентифицировать более 200 локусов, связанных с высоким риском развития БК и ЯК [2].

Большинство факторов окружающей среды, которые способствуют развитию ХВЗК, действуют опосредованно, оказывая влияние на микрофлору кишечника. В первую очередь, на риски развития БК и ЯК влияет характер питания. Известно, что распространенность ХВЗК выше в промышленно развитых странах. Для населения таких регионов характерно гиперкалорийное питание с высоким потреблением продуктов животного происхождения, а также высоким содержанием в диете обработанных и сверхобработанных пищевых продуктов, а также пищевых добавок. Примером подобного рода пищевых добавок является каррагинан, который вызывает воспаление кишечника. При этом следует отметить, что изменения морфологической картины кишечника при каррагинан-индуцированном воспалении и ХВЗК схожи [3]. Каррагинаны представляют собой сульфатированные линейные гетерополисахариды, полученные из морских водорослей (преимущественно *Carpathicus alvarezii*), и состоят из остатков D-галактозы и 3,6-ангидрогалактозы, связанных либо  $\alpha 1,4$ -, либо  $\alpha 1,3$ -гликозидными связями. Промышленно производится каррагинан двух основных сортов: очищенный (Е407) и полуочищенный (Е407а). Как Е407, так и Е407а разрешены для пищевой

промышленности и используются в качестве гелеобразователей и загустителей. При этом многочисленные исследования на лабораторных животных продемонстрировали способность каррагинанов вызывать воспаление в желудочно-кишечном тракте [4]. Данные недавно опубликованного рандомизированного исследования акцентируют внимание на возможной роли каррагинанов в этиологии ХВЗК. Результаты данной работы показывают, что безкаррагинановая диета эффективна при лечении ЯК [5]. Таким образом, вопрос изучения вклада каррагинанов в этиопатогенез ХВЗК является актуальной проблемой современной медицины.

Несмотря на тот факт, что состояние плазмалеммы клеток оказывает существенное влияние на эффективное выполнение клеточных функций, на удивление слабо изучены вопросы нарушений структурно-функционального состояния мембран при развитии ХВЗК. В частности, известно, что при ХВЗК в эритроцитах и клетках слизистой оболочки толстого кишечника (колоноциты) изменяется липидный состав клеточных мембран [6, 7]. Кроме того, при БК наблюдается снижение текучести клеточных мембран в эритроцитах [7]. В наших предыдущих работах было показано, что каррагинан влиял на физико-химическое состояние клеточных мембран энтероцитов (увеличивались полярность и протонодонорная способность поверхностных полярных областей мембраны вследствие роста их гидратации) при употреблении лабораторными животными [8]. Вдобавок показана разница между влиянием Е407а непосредственно на клетки и влиянием перорально употребленного полуочищенного каррагинана на менее гидрофобные участки (т.е. на более гидратированные полярные области липидного бислоя) [9]. Поэтому актуальным является вопрос изучения действия Е407а на более гидрофобные участки мембраны лейкоцитов, локализованных в более глубоких регионах мембран, которые теоретически должны быть менее подвержены действию экзогенных факторов.

Цель работы – изучение физико-химического состояния гидрофобного участка фосфолипидного бислоя клеточной мембраны лейкоцитов у крыс на фоне двухнедельного употребления пищевой добавки Е407а.

## Материал и методы

Эксперимент проводили на половозрелых крысах-самках линии WAG, которые были раз-

делены на две равные группы. Животные опытной группы ( $n=8$ ) употребляли *per os* пищевую добавку E407a в дозировке 140 мг на кг веса в течение 2 недель. Животные контрольной группы ( $n=8$ ) содержались на стандартном рационе питания и не потребляли полуочищенного каррагинана. Вес крыс колебался в пределах 160-190 г. За две недели до начала эксперимента животные помещались в виварий для акклиматизации (4 крысы в клетке; температура  $24\pm 2^\circ\text{C}$ ; относительная влажность – 50-60%). До забоя по окончании эксперимента животные содержались в указанных условиях вивария. Кровь крыс собиралась в стерильные вакутейнеры, содержащие дикалиевую соль этилендиаминтетрауксусной кислоты (IMPROVACUTER Evacuated EDTA  $\text{K}_2$  Spray Dried PET Tubes, Гуачжоу, КНР). Затем 100 мкл крови каждого животного использовали для получения суспензии лейкоцитов. Сначала кровь лизировали с помощью лизирующего раствора (BD FACS™ Lysing Solution, Becton, Dickinson and Company BD Biosciences, 9029989, Сан Хосе, США) и дважды отмывали в натрий-фосфатном буфере (PBS, pH 7,4; BD™ Cell Wash, Польша). Клетки ресуспендировали в PBS, и полученную суспензию лейкоцитов инкубировали с зондом PH1 (2-фенилфенантро[9,10-d]-1,3-оксазол). Клетки флуоресцентно метили с помощью следующей процедуры: аликвоту исходного раствора зонда в ацетонитриле добавляли к суспензии лейкоцитов для достижения конечной концентрации зонда  $\sim 5 \times 10^{-6}$  моль/л. Молярное отношение липидов к зонду составляло приблизительно 200:1. Перед измерениями флуоресценции суспензии клетки инкубировали с зондом при комнатной температуре в течение 1 часа. Спектры флуоресценции в суспензиях лейкоцитов, полученных из крови животных обеих групп, регистрировали на флуоресцентном спектрометре «Thermo Scientific Lumina», производства фирмы «Thermo Fisher Scientific» (Уолтем, США), в диапазоне 350-630 нм с шагом 0,1 нм. Данные собирались с интервалом 0,02 с. Щели на возбуждающем и эмиссионном монохроматорах составляли 5 и 10 нм соответственно. Длина волны возбуждения равнялась 330 нм. Флуоресцентный зонд PH1 (2-фенилфенантро[9,10-d]-1,3-оксазол) был использован, поскольку форма его спектра флуоресценции зависит от протондонорной способности микроокружения [10, 11]. Отношение интенсивностей наиболее коротковолновой полосы флуоресценции и наиболее длинновол-

новой полосы флуоресценции ( $I_s/I_L$ ) зонда PH1 используется в качестве параметра для оценки изменений протондонорной способности микроокружения зонда: например, с ростом протондонорной способности среды отношение  $I_s/I_L$  уменьшается [10, 11].

Предполагаемая локализация зонда PH1 в липидных мембранах: область жирнокислотных цепей фосфолипидов и их концевых метильных групп (т.е. гидрофобный участок фосфолипидного бислоя) [10, 11].

Принимая во внимание протондонорную способность молекулы воды и их способность проникать внутрь липидного бислоя, заполняя пустоты, образовавшиеся в результате дефектов упаковки жирнокислотных цепей фосфолипидов [12], таким образом составляя межцепочечную гидратацию, зонд PH1 может быть использован для обнаружения изменений гидратации липидных мембран [10, 11]. Учитывая, что изменения гидратации мембраны, в свою очередь, связаны с изменениями упорядоченности мембраны [12], зонд может указывать и на последние.

При подготовке эксперимента производили расчет мощности выборки. Для данной цели использовали программу «G\*Power 3». Задавались значения планируемой мощности исследования (0,8) и ошибки I рода (5%).

Статистическую обработку данных проводили с помощью программы «Graph Pad Prism 5.0». Нормальность распределения оценивали с помощью критерия Шапиро-Уилка. Использовали непараметрический критерий Манна-Уитни для сравнения показателей двух независимых групп. Разница считалась статистически достоверной при  $p < 0,05$ .

Протокол эксперимента рассмотрен и одобрен на заседании Комиссии по биоэтике Харьковского национального медицинского университета (г. Харьков, Украина). Работа выполнялась в соответствии с «Европейской конвенцией о защите позвоночных животных, используемых в экспериментальных и иных научных целях» (ETS 123).

## Результаты

Форма спектров флуоресцентного зонда PH1 в мембранах лейкоцитов незначительно различалась между лейкоцитами экспериментальной группы и контрольных животных (рис. 1). Сравнение численных значений соотношений  $I_s/I_L$  показало, что статистически достоверной разницы

( $p>0,05$ ) между соответствующими показателями исследуемых групп не обнаружено (табл. 1). Данные представлены в виде медианы и интерквартильного размаха. Подобные результаты указывают на то, что пероральное воздействие E407a в течение двух недель не влияло на протонодонорную способность мембран клеток лейкоцитов крысы в области мембраны, где находится зонд RH1, а именно в гидрофобной области липидного бислоя.

Тем не менее, заметное статистически достоверное (практически в 1,4 раза,  $p=0,0002$ ) снижение интенсивности флуоресценции зонда RH1 наблюдалось в суспензиях лейкоцитов

крыс на фоне употребления полуочищенного каррагинана (E407a), по сравнению с клетками, полученными от интактных животных контрольной группы (рис. 1, табл. 1). Такое уменьшение интенсивности флуоресценции, обнаруженное у животных, употреблявших E407a, указывает на уменьшение количества молекул зонда, связавшихся с мембранами в течение 1 часа инкубации. Возможной причиной обсуждаемого снижения скорости связывания зонда с мембранами лейкоцитов экспериментальной группы крыс может быть увеличение гидратации более полярных, расположенных ближе к поверхности, участков мембран лейкоцитов.

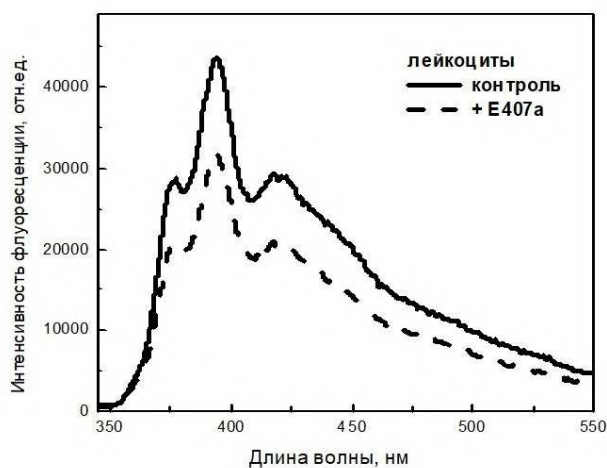


Рисунок 1 – Типичные спектры флуоресценции зонда RH1 в суспензиях лейкоцитов: (а) контрольная группа (сплошная линия), (б) животные, перорально употреблявшие E407a в течение двух недель (пунктирная линия).

## Обсуждение

С одной стороны, один из наших экспериментальных результатов (отсутствие изменения формы спектра флуоресценции) свидетельствует об отсутствии изменений гидратации мембраны в области жирнокислотных цепей фосфолипидов и их концевых метильных групп в случае клеточных мембран лейкоцитов периферической крови, полученных от крыс, которые перорально употребляли пищевую добавку E407a в течение двух недель. Обсуждаемое отсутствие изменений гидратации мембраны указывает на отсутствие изменений в упорядоченности липидов гидрофобного участка мембраны лейкоцитов.

С другой стороны, изменение интенсивности флуоресценции зонда RH1 предполагает увеличение гидратации более полярных, расположенных ближе к поверхности, участков цитоплазматической мембраны лейкоцитов. Данная

Таблица 1 – Соотношение интенсивностей наиболее коротковолновой полосы флуоресценции и наиболее длинноволновой полосы флуоресценции ( $I_s/I_L$ ) зонда RH1, а также интенсивность максимума флуоресценции зонда в мембранах лейкоцитов крыс на фоне перорального употребления пищевой добавки E407a (медиана [интерквартильный размах])

Группа и количество животных	Зонд RH1	
	Соотношение $I_s/I_L$ ( $I_{376}/I_{418}$ )	Интенсивность максимума флуоресценции ( $I_{394}$ ) (условные единицы)
Контрольная группа (n=8)	1,03 [0,99; 1,05]	43624 [42344; 44569]
Употребление E407a в течение 2 недель (n=8)	1,02 [0,98; 1,05], $p=0,8741$	31449 [31014; 32960], $p=0,0002$

Примечание: разница между двумя независимыми группами считалась статистически достоверной при значениях  $p<0,05$ .

гипотеза хорошо согласуется с полученным ранее результатом, указывающим на то, что пероральное употребление E407a повлияло на более полярные области мембран лейкоцитов (в печати). Так, увеличение полярности и протонодонорной способности микроокружения флуоресцентного зонда О1О (2-(2'-гидроксибензил)-5-фенил-1,3-оксазол) указывает на увеличение гидратации в области глицериновых остатков фосфолипидов и, таким образом, свидетельствует в пользу снижения упорядоченности липидного бислоя мембраны.

Подобные изменения упорядоченности клеточных мембран наблюдаются при апоптозе, для которого характерно снижение значений этого показателя клеточных мембран [13]. В частности, было показано, что активация каспазы-3, играющей ключевую роль в реализации апоптотической гибели клеток посредством протеолиза клеточных компонентов, коррелирует с уменьшением упорядоченности фосфолипидов во внешнем слое клеточных мембран [14]. Следует отметить, что активация апоптотических процессов в лейкоцитах периферической крови на фоне употребления животными пищевой добавки каррагинан подтверждена экспериментально [15].

Нарушения состояния клеточных мембран, продемонстрированные в данном и других наших исследованиях, аналогичны тем, которые наблюдаются у пациентов с ХВЗК. Это позволяет предположить, что вклад каррагинана в развитие БК и ЯК может быть обусловлен модификациями состояния мембран лейкоцитов. Однако дальнейшие экспериментальные и клинические исследования необходимы для выяснения роли каррагинана в этиопатогенезе ХВЗК.

*Исследование выполнено в рамках НИР Харьковского национального медицинского университета (г. Харьков, Украина) «Биохимические механизмы индукции воспаления кишечника и средства его коррекции» (№ государственной регистрации 0120U102645).*

*The study was conducted within the frames of the research work of Kharkiv National Medical University (Kharkiv, Ukraine) «Biochemical mechanisms of the intestine inflammation induction and means of its correction» (№GR 0120U102645).*

## Заключение

Таким образом, пероральное употребление пищевой добавки E407a не вызывает изменений гидратации гидрофобного участка фосфолипидного бислоя мембран лейкоцитов на фоне увеличения гидратации более полярных участков липидного бислоя.

## Литература

1. Qin, X. Why is damage limited to the mucosa in ulcerative colitis but transmural in Crohn's disease? / X. Qin // World J. Gastrointest Pathophysiol. – 2013 Aug. – Vol. 4, N 3. – P. 63–64.
2. IBD risk loci are enriched in multigenic regulatory modules encompassing putative causative genes / Y. Momozawa [et al.] // Nat. Commun. – 2018 Jun. – Vol. 9, N 1. – P. 2427.
3. Implications of the westernized diet in the onset and progression of IBD / F. Rizzello [et al.] // Nutrients. – 2019 May. – Vol. 11, N 5. – P. 1033.
4. Tobacman, J. K. Review of harmful gastrointestinal effects of carrageenan in animal experiments / J. K. Tobacman // Environ Health Perspect. – 2001 Oct. – Vol. 109, N 10. – P. 983–994.
5. A randomized trial of the effects of the no-carrageenan diet on ulcerative colitis disease activity / S. Bhattacharyya [et al.] // Nutr Healthy Aging. – 2017 Mar. – Vol. 4, N 2. – P. 181–192.
6. Ileal and colonic fatty acid profiles in patients with active Crohn's disease / S. Bühner [et al.] // Gut. – 1994 Oct. – Vol. 35, N 10. – P. 1424–1428.
7. Aozaki, S. Decreased membrane fluidity in erythrocytes from patients with Crohn's disease / S. Aozaki // Gastroenterol Jpn. – 1989 Jun. – Vol. 24, N 3. – P. 246–254.
8. A study of enterocyte membranes during activation of apoptotic processes in chronic carrageenan-induced gastroenterocolitis / A. Tkachenko [et al.] // Med. Glas. (Zenica). – 2018 Aug. – Vol. 15, N 2. – P. 87–92.
9. Effects of semi-refined carrageenan (food additive E407a) on cell membranes of leukocytes assessed in vivo and in vitro / A. Tkachenko [et al.] // Med. Glas. (Zenica). – 2020 Jun. – Vol. 18, N 1. – P. 32–39.
10. Posokhov, Y. O. Derivatives of 2,5-diaryl-1,3-oxazole and 2,5-diaryl-1,3,4-oxadiazole as environment-sensitive fluorescent probes for studies of biological membranes / Y. O. Posokhov, A. Kyrychenko, Y. Korniyenko // Reviews in Fluorescence 2017 / ed. C. D. Geddes. – Switzerland, AG : Springer Nature, 2018. – P. 199–230.
11. Posokhov, Y. Fluorescent probes sensitive to changes in the cholesterol-to-phospholipids molar ratio in human platelet membranes during atherosclerosis / Y. Posokhov // Methods Appl. Fluoresc. – 2016 Sep. – Vol. 4, N 3. – 034013.
12. Ho, C. Hydration at the membrane protein-lipid interface / C. Ho, C. D. Stubbs // Biophys. J. – 1992 Oct. – Vol. 63, N 4. – P. 897–902.
13. Detection of apoptosis through the lipid order of the outer plasma membrane leaflet / Z. Darwich [et al.] // Biochim. Biophys. Acta. – 2012 Dec. – Vol. 1818, N 12. – P. 3048–3054.
14. Caspase-3 activation decreases lipid order in the outer

plasma membrane leaflet during apoptosis: A fluorescent probe study / K. A. Pyrshev [et al.] // Biochim. Biophys. Acta Biomembr. – 2017 Oct. – Vol. 1859, N 10. – P. 2123–2132.

15. Kopanytsia, O. M. Carrageenan induces cell death in rats blood / O. M. Kopanytsia, M. I. Marushchak, I. Y. Krynytska // Int. J. Med. Med. Res. – 2018 Jul. – Vol. 4, N 1. – P. 67–70.

Поступила 05.11.2020 г.

Принята в печать 15.02.2021 г.

## References

- Qin X. Why is damage limited to the mucosa in ulcerative colitis but transmural in Crohn's disease? World J Gastrointest Pathophysiol. 2013 Aug;4(3):63-64. doi:10.4291/wjgp.v4.i3.63
- Momozawa Y, Dmitrieva J, Théâtre E, Deffontaine V, Rahmouni S, Charlotiaux B, et al. IBD risk loci are enriched in multigenic regulatory modules encompassing putative causative genes. Nat Commun. 2018 Jun;9(1):2427. doi: 10.1038/s41467-018-04365-8
- Rizzello F, Spisni E, Giovanardi E, Imbesi V, Salice M, Alvisi P, et al. Implications of the westernized diet in the onset and progression of IBD. Nutrients. 2019 May;11(5):1033. doi: 10.3390/nu11051033
- Tobacman JK. Review of harmful gastrointestinal effects of carrageenan in animal experiments. Environ Health Perspect. 2001;109(10):983-94. doi:10.1289/ehp.01109983
- Bhattacharyya S, Shumard T, Xie H, Dodda A, Varady KA, Feferman L, et al. A randomized trial of the effects of the no-carrageenan diet on ulcerative colitis disease activity. Nutr Healthy Aging. 2017 Mar;4(2):181-92. doi: 10.3233/NHA-170023
- Bühner S, Nagel E, Körber J, Vogelsang H, Linn T, Pichlmayr R. Ileal and colonic fatty acid profiles in patients with active Crohn's disease. Gut. 1994 Oct;35(10):1424-8.
- Aozaki S. Decreased membrane fluidity in erythrocytes from patients with Crohn's disease. Gastroenterol Jpn. 1989 Jun;24(3):246-54.
- Tkachenko A, Marakushyn D, Kalashnyk I, Korniyenko Y, Onishchenko A, Gorbach T, et al. A study of enterocyte membranes during activation of apoptotic processes in chronic carrageenan-induced gastroenterocolitis. Med Glas (Zenica). 2018 Aug;15(2):87-92. doi: 10.17392/946-18
- Tkachenko A, Onishchenko A, Roshal A, Nakonechna O, Chumachenko T, Posokhov Y. Effects of semi-refined carrageenan (food additive E407a) on cell membranes of leukocytes assessed in vivo and in vitro. Med Glas (Zenica). 2020 Jun;18(1):32-9. doi: 10.17392/1213-21
- Posokhov YO, Kyrychenko A, Korniyenko Y. Derivatives of 2,5-diaryl-1,3-oxazole and 2,5-diaryl-1,3,4-oxadiazole as environment-sensitive fluorescent probes for studies of biological membranes. In: Geddes CD, ed. Reviews in Fluorescence 2017. Switzerland, AG: Springer Nature; 2018. P. 199-230.
- Posokhov Y. Fluorescent probes sensitive to changes in the cholesterol-to-phospholipids molar ratio in human platelet membranes during atherosclerosis. Methods Appl Fluoresc. 2016 Sep;4(3):034013. doi: 10.1088/2050-6120/4/3/034013
- Ho C, Stubbs CD. Hydration at the membrane protein-lipid interface. Biophys J. 1992 Oct;63(4):897-902. doi: 10.1016/S0006-3495(92)81671-5
- Darwich Z, Klymchenko AS, Kucherak OA, Richert L, Mély Y. Detection of apoptosis through the lipid order of the outer plasma membrane leaflet. Biochim Biophys Acta. 2012 Dec;1818(12):3048-54. doi: 10.1016/j.bbammem.2012.07.017
- Pyrshev KA, Yesylevskyy SO, Mély Y, Demchenko AP, Klymchenko AS. Caspase-3 activation decreases lipid order in the outer plasma membrane leaflet during apoptosis: A fluorescent probe study. Biochim Biophys Acta Biomembr. 2017;1859(10):2123-32. doi: 10.1016/j.bbammem.2017.08.002
- Kopanytsia OM, Marushchak MI, Krynytska IY. Carrageenan induces cell death in rats blood. Int J Med Med Resc. 2018 Jul;4(1):67-70. doi: 10.11603/ijmmr.2413-6077.2018.1.8979

Submitted 05.11.2020

Accepted 15.02.2021

## Сведения об авторах:

Ткаченко А.С. – к.м.н., доцент, и.о. директора НИИ экспериментальной и клинической медицины Харьковского национального медицинского университета;

Посохов Е.А. – д.х.н., старший преподаватель Учебно-научного института химических технологий и инженерии Национального технического университета «Харьковский политехнический институт».

## Information about authors:

Tkachenko A.S. – Candidate of Medical Sciences, associate professor, acting director of the Research Institute of Experimental and Clinical Medicine, Kharkiv National Medical University;

Posokhov Y.O. – Doctor of Chemical Sciences, senior lecturer of the Educational and Scientific Institute of Chemical Technology and Engineering, National Technical University «Kharkiv Polytechnic Institute».

**Адрес для корреспонденции:** Украина, 61022, г. Харьков, пр. Науки, 4, Харьковский национальный медицинский университет, НИИ экспериментальной и клинической медицины. E-mail: antontkachenko555@gmail.com – Ткаченко Антон Сергеевич.

**Correspondence address:** Ukraine, 661022, Kharkiv, 4 Nauky ave., Kharkiv National Medical University, Research Institute of Experimental and Clinical Medicine. E-mail: antontkachenko555@gmail.com – Anton S. Tkachenko.



## ОСОБЕННОСТИ РЕЗИСТЕНТНОСТИ КЛИНИЧЕСКИХ ИЗОЛЯТОВ *E.COLI* И *C.ALVICANS*, ОБРАЗУЮЩИХ БИОПЛЕНКУ

АРТЮХ Т. В., СОКОЛОВА Т. Н., ОСТРОВСКАЯ О.Б.

Гродненский государственный медицинский университет, г. Гродно, Республика Беларусь

Вестник ВГМУ. – 2021. – Том 20, №1. – С. 46-54.

## THE RESISTANCE PECULIARITIES OF *E.COLI* AND *C.ALVICANS* CLINICAL ISOLATES FORMING A BIOFILM

ARTSIUKH T.V., SOKOLOVA T.N., ASTROWSKAJA A.B.

Grodno State Medical University, Grodno, Republic of Belarus

Vestnik VGMU. 2021;20(1):46-54.

### Резюме.

Цель – изучение способности к пленкообразованию *C.albicans* и *E.coli*, выделенных у пациенток с вагинитами, а также их чувствительности к доксициклину, амоксиклаву, офлоксацину, флуконазолу, клотримазолу в планктонном виде и в составе моно- и микст-биопленок.

Материал и методы. В ходе исследования изучались свойства и способность к пленкообразованию *C.albicans* 2924 и *E.coli* 2646, выделенных со слизистых у пациенток с клиническими признаками вагинита. Определялись минимальная подавляющая концентрация (МПК) и минимальная бактерицидная концентрация (МБК) антибиотиков для планктонных форм микроорганизмов: бактерий и кандид в составе моно-биопленки, а также в составе микст-биопленки.

Результаты. Выявлено, что исследуемые микроорганизмы способны образовывать биопленку. При изучении чувствительности микроорганизмов в составе биопленок (БП) выявлено, что МПК препаратов для моно-биопленок возрастают в 2-4 раза, для микст-биопленок в 2,5-8,5 раза относительно МПК препаратов для планктонных форм *E.coli* и *C.albicans*. Бактерицидные концентрации амоксиклава, офлоксацина, доксициклина, флуконазола, клотримазола для планктонных форм являются неэффективными для биопленочных форм этих же микроорганизмов. Заключение. Определение чувствительности микроорганизмов в составе БП к антибактериальным препаратам необходимо для назначения рациональной антибиотикотерапии и разработки протоколов эмпирической антибактериальной терапии. Актуальным является изучение механизмов резистентности бактерий в составе биопленки, разработка новых фармацевтических препаратов с высоким потенциалом действия на биопленки, так как стандартная терапия высокими дозами антибиотиков (АБ) токсична для макроорганизма, что диктует необходимость апробации новых средств.

**Ключевые слова:** резистентность, микробные пленки, антибиотики, антимикотические препараты, минимальная подавляющая концентрация.

### Abstract.

Objectives. To model biofilms of mixed paired cultures of *C.albicans* and *E.coli* in vitro and study the characteristics of their sensitivity to antimicrobial drugs (doxycycline, amoxiclav, ofloxacin, fluconazole, clotrimazole) in planktonic form, as well as in the composition of mono- and mixed biofilms.

Material and methods. In the course of the study, the properties and ability to film formation of *C.albicans* 2924 and *E.coli* 2646 isolated from mucous membranes in patients with clinical signs of vaginitis were investigated. The minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) of antibiotics were determined for planktonic forms of microorganisms: bacteria and candida in the composition of a mono-biofilm, as well as in the composition of a mixed biofilm.

Results. It has been revealed that the studied microorganisms are capable of forming a biofilm. On studying the sensitivity of microorganisms in biofilms (BF) it has been found that the MIC of preparations for mono-biofilms increases 2-4 times, for mixed biofilms 2.5-8.5 times compared to the MIC of preparations for planktonic forms of *E.coli* and *C.albicans*.

Bactericidal concentrations of amoxiclav, ofloxacin, doxycycline, fluconazole, clotrimazole for planktonic forms are not effective for biofilm forms of the same microorganisms.

Conclusions. To determine the sensitivity of microorganisms in the composition of biofilms to antibacterial drugs is necessary for the administration of rational antibiotic therapy and the development of empirical antibiotic therapy protocols. It is important to study the mechanisms of bacterial resistance in the composition of biofilms, develop new pharmaceuticals with a high potential for action on biofilms, since standard therapy with high doses of antibiotics (AB) is toxic for the macroorganism, which dictates the need to test new agents.

Key words: resistance, microbial films, antibiotics, antimycotic drugs, minimum inhibitory concentration.

18 июня 2019 во Всемирной организации здравоохранения объявили о запуске новой глобальной кампании по борьбе с лекарственной устойчивостью [1]. По данным ВОЗ, около 50 процентов антибиотиков (АБ) используются не по назначению [2]. Мониторинг устойчивости к антибактериальным средствам клинически значимых микроорганизмов – неотъемлемое звено системы инфекционного контроля в странах, где реализуется программа по сдерживанию резистентности бактерий к АБ [1-3].

Проблему резистентности все чаще рассматривают в свете того факта, что 95-99% микроорганизмов в природных местах обитания существуют в виде биопленок [4, 5]. Биопленка – это колония микроорганизмов (15%) в матрице синтезированного ими внеклеточного полимерного вещества (85%). Внеклеточный матрикс является барьером для действия иммунных клеток и антибактериальных веществ [6]. Регуляторные системы в биопленке работают по принципу феномена, получившего название «ощущение кворума» (от англ. Quorum sensing; QS) [7,8]. QS-регуляция дает возможность бактериям скоординированно контролировать экспрессию генов популяции [9]. В этом типе поведения бактерии используют преимущества, которые не были доступны им как индивидуальным клеткам, проявляя сходство с «социальным» поведением многоклеточных организмов [10].

Биопленке присуще множество уникальных и еще до конца не изученных качеств. Одним из клинически значимых свойств бактерий в составе биопленок является более высокая устойчивость к АБ в сравнении с их свободно живущими аналогами. Минимальная подавляющая концентрация (МПК) и минимальная бактерицидная концентрация (МБК) антибиотиков в отношении бактерий в биопленках может в тысячи раз превышать этот показатель для планктонных форм бактерий [11]. По этой причине инфекци-

онный процесс может приобретать хронические и рецидивирующие формы [12]. В связи с гетерогенностью консорциума механизмы, отвечающие за резистентность, функционируют в биопленке одновременно, обеспечивая высокие уровни антибиотикорезистентности. Эти механизмы в корне отличаются от механизмов устойчивости, используемых планктонными клетками.

Предложено несколько механизмов резистентности биопленок к антибиотикам. В основе их заложен принцип многоклеточного организма:

- физический барьер, за счет синтезированных клетками экзополисахаридов, внеклеточной ДНК, белков и липидов [13, 14];
- изменение метаболизма в биопленке [15-17];
- генетический механизм – обмен плазмидами, ответственными за резистентность к антибиотикам.

Таким образом, биопленки могут увеличивать распространение мультирезистентных бактерий [18].

На основании мониторинга этиологической структуры бактериальных инфекций ведущими возбудителями мочеполовой системы являются грамотрицательные микроорганизмы, принадлежащие к семейству *Enterobacteriaceae*. Наиболее частый представитель этого семейства – *E.coli* [19]. Их ведущая этиологическая значимость обусловлена доминированием среди факультативно-анаэробной флоры кишечника, откуда они попадают во влагалище [20]. Кишечные палочки характеризуются наличием большого числа факторов патогенности, обеспечивающих существование палочек в моно- и микст-биопленках [21]. При попадании во влагалище кишечные палочки неизбежно вступают в сообщества с грибами рода *Candida*.

Носительство дрожжеподобных грибов в человеческой популяции достигает 80%. Среди инфекционных поражений грибами рода *Candida* лидирует вульвовагинитный кандидоз [22]. По

данным литературы, 3/4 женского населения мира в течение жизни переносят хотя бы 1 эпизод вульвовагинита, причем в 25-30% случаев он вызван грибами *C.albicans* [23]. Факторы вирулентности дрожжеподобных грибов играют ключевую роль в столь высокой распространенности [24]. Среди них наибольшее значение играют следующие: адгезины, обуславливающие адгезию гриба к клеткам хозяина; кислотные протеазы и фосфолипазы, обеспечивающие проникновение и повреждение клеточных оболочек; диморфизм – морфологическая структура зависит от pH среды; способность формировать биопленки. *C.albicans* производит количественно большую и структурно более сложную биопленку, чем другие представители дрожжеподобных грибов [25].

### Материал и методы

Исследование проводилось на клинических штаммах *E.coli* 2646 и *C. albicans* 2924, выделенных у больных с вагинитами. Изучалась способность данных штаммов к пленкообразованию с использованием электронной микроскопии. Определялась их чувствительность к доксициклину, амоксиклаву, офлоксацину, флуконазолу, клотримазолу в различных формах существования (планктонной, моно- и микст-биопленках). Проводился сравнительный анализ чувствительности к препаратам для разных форм существования микроорганизмов.

Эксперимент проводился с соблюдением определенных правил, которые необходимо выполнять, чтобы предохранить исследуемую культуру от загрязнения посторонними микроорганизмами [26]. Определение МПК антибактериальных препаратов выполнялось методом серийных разведений в бульоне, в работе руководствовались системой предельных значений EUCAST [27]. Использовали суточную культуру микроорганизмов, выращенную на скошенном мясопептонном агаре в концентрации  $1,5 \times 10^8$  КОЕ/мл ед. (0,5 ед. по Мак-Фарланду) для *E.coli* и  $6 \times 10^8$  КОЕ/мл ед. (2 ед. по Мак-Фарланду) для *C.albicans* в стерильном физиологическом растворе хлорида натрия. Концентрацию микробных тел контролировали измерением оптической плотности растворов по шкале McFarland на детекторе мутности суспензий DEN-1 Biosan. Результат измерения зависит от размеров микроорганизмов. Представленные числовые значения стандарта мутности по Мак-Фарланду являются средними для бактерий. Для

дрожжевых микроорганизмов, размеры которых больше, эти значения должны быть разделены на 30 [28]. Антимикотики и антибиотики растворяли и титровали в 96-луночных U-образных планшетах в концентрациях от 1000 мкг/мл до 7,5 мкг/мл. В каждую лунку планшета к разведениям препаратов в бульоне Мюллера-Хинтона для *E.coli* и бульоне Сабуро для *C.albicans* вносили 20 мкл инокулята. Контролем служили питательная среда с культурой микроорганизмов без препарата и питательная среда с антибиотиком. Планшеты с культурой инкубировали при 35°C в течение 24 часов. Результаты учитывали визуально в проходящем свете по определению наличия роста культур в опытных и контрольных лунках. МПК определяли по наименьшей концентрации АБ, которая подавляла видимый рост микроорганизма [29]. Помутнение среды указывает на наличие высокой численности бактерий (более  $10^7$  кл/мл), что свидетельствует о резистентности микроорганизмов к препарату [30]. Затем проводился посев из лунок на чашки: мясопептонный агар для *E.coli* и среду Сабуро для *C.albicans*, с последующим определением МБК – наименьшая концентрация препарата, при которой отсутствует бактериальный рост в виде колоний микроорганизмов. Экспозиция 24 ч. при 35°C.

Для выращивания моно- и микст-биопленок использовали стерильные 96-луночные полистироловые U-образные планшеты. В каждую лунку вносили по 100 мкл бульона, 20 мкл взвеси микроорганизмов помещали в термостат для инкубации. Для контроля роста биопленки под электронным микроскопом в лунки помещали специальные медные сеточки диаметром 3,5 мм, покрытые формваровой плёнкой. В течение трех дней ежедневно проводили промывание лунок фосфатным буферным раствором (pH 7,2-7,4) для удаления планктонных клеток, затем вносили свежую питательную среду и продолжали инкубировать, а также делали отбор некоторых из них для исследования ультраструктуры биопленки с помощью трансмиссионной электронной микроскопии: микроскоп JEM 1011 (JEOL, Япония), ускоряющее напряжение 80 KV. Произвели отбор 10 препаратов-сеточек, для каждого образца сделали по 10 фотографий в последовательно случайном поле зрения.

Для изучения действия препаратов на 4-е сутки после промывки поставили двойные разведения (1000 мкг/мл – 7,5 мкг/мл) антибиотиков и продолжали инкубировать [31]. Через 24 часа (на

5-й день) каждую лунку промывали фосфатным буферным раствором, затем туда вносили свежую питательную среду и 1% раствор резазурина для регистрации окислительно-восстановительного потенциала в лунках. Изменение цвета резазурина отражало активность действия препарата на биопленку. В результате бактериостатического или бактерицидного действия антибиотика микроорганизмы не проявляют жизнедеятельности, и цвет резазурина не изменялся (синий). При устойчивости микроорганизма к антибиотику индикатор менял цвет на розовый [32]. Результат регистрировали через 1, 2, 3, 6 и 18-24 часа. Изменение окраски в опытных лунках по времени и интенсивности окраски сравнивали с контрольными. Результаты МПК и МБК препаратов для биопленок, полученные по методике с использованием резазурина, сравнивали с результатами электронной микроскопии.

Для каждой пары «микроб-антибиотик» в форме планктона и биопленок было выполнено три повтора эксперимента. Математическая и статистическая обработка результатов выполнялась средствами Microsoft Excel 2010, а также пакета для статистической обработки данных Statistica 10.

## Результаты и обсуждение

Результаты электронной микроскопии показали, что исследуемые микроорганизмы *E.coli* 2646 и *C.albicans* 2924 способны образовывать биопленку. Кишечные палочки, адгезированные на поверхности кандид, являются признаком истинной биопленки, в отличие от агаровых колоний, которые достаточно часто представляют как биопленки (рис. 1). МПК и МБК мкг/мл препаратов проанализированы с использованием описательной статистики, представлены в таблице 1, диаграммах размаха (рис. 2). Наибольшую активность в отношении планктонной формы *E.coli* проявляет офлоксацин – 15 мкг/мл, в составе монопленки 60 мкг/мл, в составе микст-пленки 120 мкг/мл. Наименьшую активность в отношении *E.coli* проявляет амоксиклав – 500 мкг/мл, в составе монопленки 1000 мкг/мл, в составе микст-пленки 1000 мкг/мл. В отношении планктонной формы *C.albicans* активен флуконазол – 15 мкг/мл, в составе монопленки 500 мкг/мл, в составе микст-пленки 1000 мкг/мл. Клотримазол не оказывает эффективного воздействия на планктонную форму кандид. Бактериостатические концентрации препаратов для биопленок, полученные

Таблица 1 – Данные описательной статистики, значения МПК и МБК препаратов по формам существования микроорганизмов

Показатель	Микро-организм	Препарат	Мин.	Макс.	Сред.	Ст. откл.	Меди-ана	Ниж. кварт.	Верх. кварт.
МПК для планктонных форм, мкг/мл	<i>E.coli</i>	амоксиклав	500	500	500	0	500	500	500
	<i>E.coli</i>	офлоксацин	10	20	15	5	15	10	20
	<i>E.coli</i>	доксидиклин	25	35	30	5	30	25	35
	<i>C.albicans</i>	флуконазол	15	15	15	0	15	15	15
	<i>C.albicans</i>	клотримазол	500	500	500	0	500	500	500
МБК для планктонных форм, мкг/мл	<i>E.coli</i>	амоксиклав	1800	2200	2000	200	2000	1800	2200
	<i>E.coli</i>	офлоксацин	25	35	30	5	30	25	35
	<i>E.coli</i>	доксидиклин	55	65	60	5	60	55	65
	<i>C.albicans</i>	флуконазол	900	1100	1000	100	1000	900	1100
	<i>C.albicans</i>	клотримазол	1800	2200	2000	200	2000	1800	2200
МПК для монопленок, мкг/мл	<i>E.coli</i>	амоксиклав	1000	1000	1000	0	1000	1000	1000
	<i>E.coli</i>	офлоксацин	50	70	60	10	60	50	70
	<i>E.coli</i>	доксидиклин	120	120	120	0	120	120	120
	<i>C.albicans</i>	флуконазол	450	550	500	50	500	450	550
	<i>C.albicans</i>	клотримазол	1000	1000	1000	0	1000	1000	1000
МПК для микст-пленок, мкг/мл	<i>E.coli</i> + <i>C.albicans</i>	амоксиклав	1000	1000	1000	0	1000	1000	1000
		офлоксацин	110	130	120	10	120	110	130
		доксидиклин	250	250	250	0	250	250	250
		флуконазол	1000	1000	1000	0	1000	1000	1000
		клотримазол	1000	1000	1000	0	1000	1000	1000

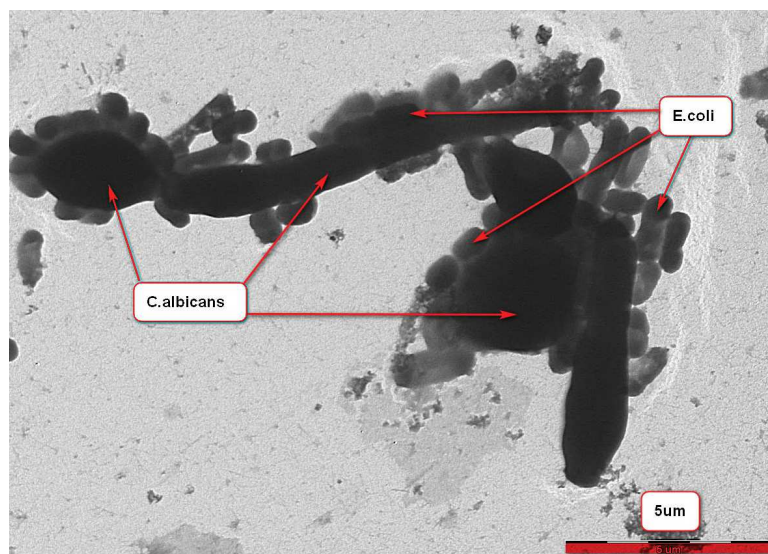


Рисунок 1 – Микст-био пленка *E.coli* + *C. albicans* при воздействии МБК препаратов для планктонных форм: доксициклин 60 мкг/мл + флуконазол 1000 мкг/мл; Ув. 5000; мерный отрезок равен 5 мкм.

с использованием индикатора, подтверждаются результатами электронной микроскопии.

Бактерицидная концентрация амоксиклава для *E.coli* 2000 мкг/мл, офлоксацина 30 мкг/мл, доксициклина 60 мкг/мл. МБК флуконазола для *C.albicans* 1000 мкг/мл, клотримазола 2000 мкг/мл. Бактерицидного эффекта доксициклина, амоксиклава, офлоксацина, флуконазола, клотримазола в исследуемых концентрациях веществ для микроорганизмов в составе моно- и микст-био пленок достигнуто не было (рис. 1).

Диаграммы размаха отражают МПК амоксиклава, офлоксацина и доксициклина по отношению к *E.coli*, флуконазола и клотримазола к *C.albicans*, что продублировано в таблице 1.

При изучении чувствительности микроорганизмов в составе био пленок на основании усредненных значений описательной статистики выявлено, что МПК препаратов для моно-био пленок пропорционально возрастают в 2-4 раза, для микст-био пленок в 2,5-8.5 раза относительно МПК препаратов для планктонных форм *E.coli* и *C.Albicans* (рис. 3). Полученные результаты подтверждаются данными других исследователей [11].

Бактерицидная концентрация препаратов для планктонных форм не оказала бактерицидного эффекта на микроорганизмы в составе био пленки. Изучение био пленочных структур под электронным микроскопом при воздействии концентрациями препаратов, которые являлись

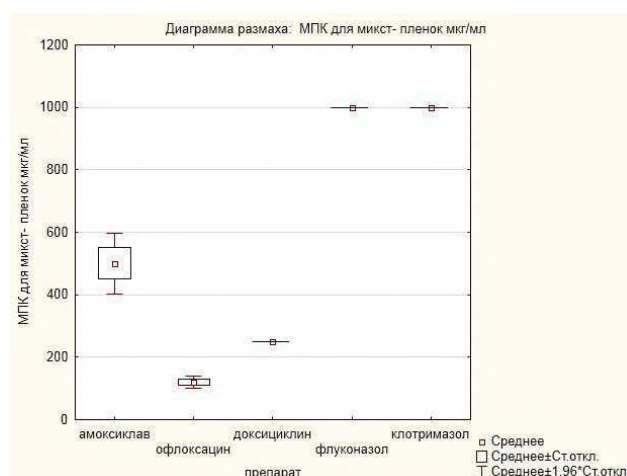
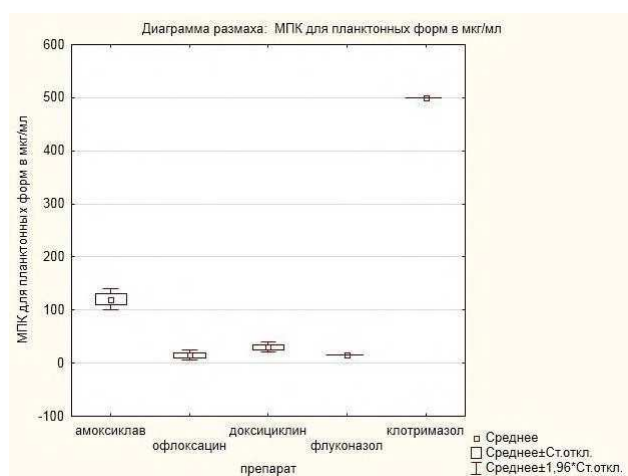


Рисунок 2 – Диаграммы размаха, МПК для планктонных форм и для микст- пленок.

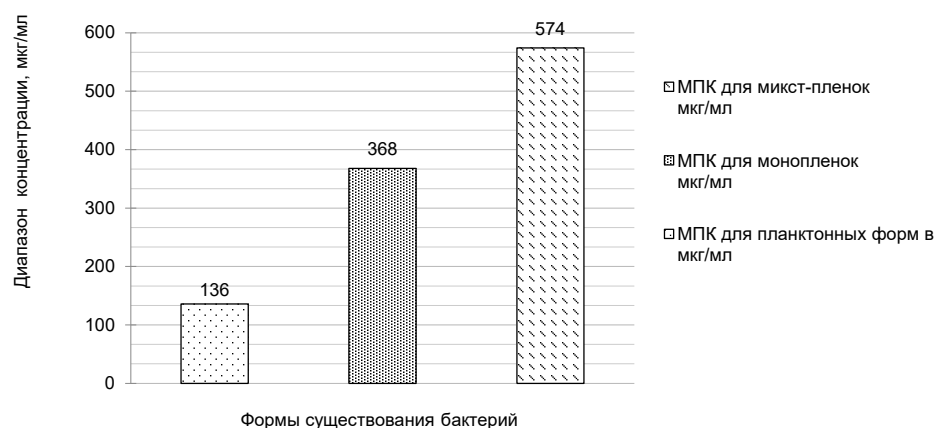


Рисунок 3 – Средние значения МПК мкг/мл препаратов для разных форм существования *E.coli* и *C.albicans*.



Рисунок 4 – МБК доксицилина для планктонных форм *E.coli*=60 мкг/мл.

бактерицидными для планктонных форм (рис. 1), продемонстрировало наличие микроорганизмов. Это еще раз подтверждает, что МБК препаратов для планктонных форм (рис. 4) меньше в десятки раз по сравнению с их пленочными аналогами. Также при микроскопии видна способность образовывать биопленки между штаммами дрожжей и кишечных палочек. Кроме того, клетки *E.coli* колонизировали поверхность превосходящих их по размерам грибов [28], создавая при этом дополнительный барьер для проникновения противогрибковых препаратов к клеткам *C.albicans* (рис. 1).

С одной стороны, наличие антибиотикорезистентности зависит от способности микроорганизмов состоять в биопленочном сообществе (quorum sensing; QS) [7, 8], с другой – сама способность образовывать биопленки повышает шансы на устойчивость, по этой причине микро-

организм стремится к ее приобретению. Бактерии в составе биопленки не просто физически менее доступны, но и повышают вероятность обмена генетической информацией, а на этапе диспергирования биопленки остаются неуязвимыми.

## Заключение

Исследуемые клинические изоляты *C.albicans* 2924 и *E.coli* 2646 способны образовывать биопленки, что ведет к усилению резистентности. Взаимовлияние между участниками ассоциаций в структуре биопленок приводит к отягощению течения заболевания в связи с неэффективным воздействием терапевтических препаратов. Бактериальные биопленки обладают различной степенью толерантности в зависимости от стадий пленкообразования как к антибиотикам, так и к иммунокомпетентным клеткам [33]. С каждым последующим, неэффективным для их удаления из организма воздействием АБ участники кворума приобретают устойчивость, стремясь к мультирезистентности.

Назначение рациональной антибиотикотерапии и разработка протоколов эмпирической антибактериальной терапии нуждаются в определении чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам в планктонном состоянии, а также в состоянии биопленки. Актуальным является изучение механизмов резистентности бактерий в составе микробных сообществ.

Стандартная терапия высокими дозами антибиотиков токсична для макроорганизма, что диктует необходимость апробации новых ве-

ществ с высоким потенциалом действия на биопленки.

**Благодарность.** Авторы выражают благодарность старшему лаборанту кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии имени С.И.Гельберга УО «Гродненский государственный медицинский университет» Домостой Елене Анатольевне за оказанное содействие при проведении исследований.

**Acknowledgement.** The authors express their gratitude to the senior laboratory assistant of the Chair of Microbiology, Virology and Immunology named after S.I. Gelberg of Grodno State Medical University Domostoy E.A. for the help provided while conducting investigations.

## Литература

1. Эпиднадзор за устойчивостью к противомикробным препаратам в Центральной Азии и Европе [Электронный ресурс] : CAESAR 2019 г. : практ. пособие / ВОЗ, Европ. Регион. бюро. – Режим доступа: [https://www.euro.who.int/\\_\\_data/assets/pdf\\_file/0013/430132/WHO-CAESAR-manual-2019-RUS.pdf](https://www.euro.who.int/__data/assets/pdf_file/0013/430132/WHO-CAESAR-manual-2019-RUS.pdf). – Дата доступа: 26.01.2021.
2. Европейский стратегический план действий по проблеме устойчивости к антибиотикам [Электронный ресурс] : 61-я сес., Баку, Азербайджан, 2011 г. / ВОЗ, Европ. Регион. комитет. – Режим доступа: [https://www.euro.who.int/\\_\\_data/assets/pdf\\_file/0015/150612/RC61\\_Res\\_r06.pdf](https://www.euro.who.int/__data/assets/pdf_file/0015/150612/RC61_Res_r06.pdf). – Дата доступа: 26.01.2021.
3. Гаврилова, И. А. Устойчивость госпитальных изолятов стафилококков и синегнойной палочки к дезинфицирующим средствам / И. А. Гаврилова, Л. П. Титов // Здоровоохранение. – 2011. – № 11. – С. 18–20.
4. Афиногенова, А. Г. Микробные биопленки ран: состояние вопроса / А. Г. Афиногенова, Е. Н. Даровская // Травматология и ортопедия России. – 2011. – № 3. – С. 119–125.
5. Biofilm formation as a response to ecological competition / N. M. Oliveira [et al.] // PLoS Biol. – 2015 Jul. – Vol. 13, N 7. – e1002191.
6. Современные представления о механизмах взаимодействия биопленки и факторов клеточного иммунитета / Н. М. Шлепотина [и др.] // Журн. микробиологии, эпидемиологии и иммунологии. – 2020. – Т. 97, № 1. – С. 83–90.
7. Механизмы выживания бактерий / О. В. Бухарин [и др.]. – Москва : Медицина, 2005. – 367 с.
8. Biradar, B. Quorum sensing in plaque biofilms: challenges and future prospects / B. Biradar, P. Devi // J. Contemp. Dent. Pract. – 2011 Nov. – Vol. 12, N 6. – P. 479–485.
9. Методы культивирования и изучения бактериальных биопленок / И. Р. Симонова [и др.] // Изв. высш. учеб. заведений. Северо-Кавказ. регион. Естеств. науки. – 2017. – № 1. – С. 75–81.
10. Hooshangi, S. From unicellular properties to multicellular behavior: bacteria quorum sensing circuitry and applications / S. Hooshangi, W. E. Bentley // Curr. Opin. Biotechnol. – 2008 Dec. – Vol. 19, N 6. – P. 550–555.
11. Antibiotic resistance of bacterial biofilms / N. Hoiby [et al.] // Int. J. Antimicrob. Agents. – 2010 Apr. – Vol. 35, N 4. – P. 322–332.
12. Petrova, O. E. Escaping the biofilm in more than one way: desorption, detachment or dispersion / O. E. Petrova, K. Sauer // Curr. Opin. Microbiol. – 2016 Apr. – Vol. 30. – P. 67–78.
13. Synergistic effects and antibiofilm properties of chimeric peptides against multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* strains / R. Gopal [et al.] // Antimicrob. Agents Chemother. – 2014. – Vol. 58, N 3. – P. 1622–1629.
14. Чернявский, В. И. Бактериальные биопленки и инфекции / В. И. Чернявский // Ann. Mechnikov Inst. – 2013. – N 1. – P. 86–90.
15. Биопленки: основные принципы организации и методы исследования : учеб.-метод. пособие / А. М. Марданова [и др.]. – Казань : Центр печати «Линк», 2016. – 48 с.
16. Льюис, К. Персистирующие клетки и загадка выживания биопленок / К. Льюис // Биохимия. – 2005. – Т. 70, № 2. – С. 327–336.
17. Lafleur, M. D. Patients with long-term oral carriage harbor high-persister mutants of *Candida albicans* / M. D. Lafleur, Q. Qi, K. Lewis // Antimicrob. Agents Chemother. – 2010 Jan. – Vol. 54, N 1. – P. 39–44.
18. Jorge, P. New trends in peptide-based anti-biofilm strategies: a review of recent achievements and bioinformatic approaches / P. Jorge, A. Lourenco, M. O. Pereira // Biofouling. – 2012. – Vol. 28, N 10. – P. 1033–1061.
19. Волосач, О. С. Ведущие возбудители инфекций мочевыводящих путей пациентов Гродненского региона в 2018 году [Электронный ресурс] / О. С. Волосач, С. Е. Петрова, Н. С. Маркович // Актуальные вопросы микробиологии, инфектологии и иммунологии : сб. материалов межвуз. конф., посвящ. памяти проф. С. И. Гельберга, Гродно, 29 апр. 2019 г. – Гродно, 2019. – С. 30–33. – 1 электрон. опт. диск.
20. Поздеев, О. К. Энтеробактерии : рук. для врачей / О. К. Поздеев, Р. В. Федоров. – Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2007. – 720 с.
21. Donlan, R. M. Biofilms: survival mechanisms of clinically relevant microorganisms / R. M. Donlan, J. W. Costerton // Clin. Microbiol. Rev. – 2002 Apr. – Vol. 15, N 2. – C. 167–193.
22. Delaloye, J. Invasive candidiasis as a cause of sepsis in the critically ill patient / J. Delaloye, T. Calandra // Virulence. – 2014 Jan. – Vol. 5, N 1. – P. 161–169.
23. Mills, B. B. Vaginitis: beyond the basics / B. B. Mills // Obstet. Gynecol. Clin. North. Am. – 2017 Jun. – Vol. 44, N 2. – P. 159–177.
24. Biofilms formed by isolates from recurrent vulvovaginal candidiasis patients are heterogeneous and insensitive to fluconazole / L. Sherry [et al.] // Antimicrob. Agents Chemother. – 2017 Aug. – Vol. 61, N 9. – e01065-17.
25. Вульвовагинальный кандидоз: клинические и терапевтические аспекты в практике акушера-гинеколога / Г. Р. Байрамова [и др.] // Акушерство и гинекология: новости, мнения, обучения. – 2017. – № 4. – С. 63–69.
26. Концевая, И. И. Микробиология: культивирование и рост бактерий : практ. рук. для студентов биол. спец. вузов / И. И. Концевая. – Чернигов : Десна полиграф, 2017. – 44 с.
27. Тапальский, Д. В. Определение чувствительности к ан-



тибиотикам методом микроразведений в бульоне: модификация, доступная для всех / Д. В. Тапальский, И. А. Бильский // Клин. микробиология и антимикроб. химиотерапия. – 2018. – Т. 20, № 1. – С. 62–67.

28. DEN-1 DEN-1B. Денситометр. Детектор мутности суспензий [Электронный ресурс] : инструкция пользователя / Biosan SIA. – Режим доступа: [https://biosan.lv/media/products/files/den-1-den-1b-ru204-0319\\_D7XD9aA.pdf](https://biosan.lv/media/products/files/den-1-den-1b-ru204-0319_D7XD9aA.pdf). – Дата доступа: 26.01.2021.
29. Standardized method for in vitro antifungal susceptibility testing of *Candida albicans* biofilms / G. Ramage [et al.] // Antimicrob. Agents Chemother. – 2001 Sep. – Vol. 45, N 9. – P. 2475–2479.
30. Лысак, В. В. Микробиология : практикум / В. В. Лысак,

Р. А. Желдакова, О. В. Фомина. – Минск : БГУ, 2015. – 115 с.

31. Соколова, Т. Н. Микробные биопленки и способы их обнаружения / Т. Н. Соколова // Журн. ГрГМУ. – 2014. – № 4. – P. 12–15.
32. A simple and reproducible 96-well plate-based method for the formation of fungal biofilms and its application to antifungal susceptibility testing / C. G. Pierce [et al.] // Nat. Protoc. – 2008. – Vol. 3, N 9. – P. 1494–1500.
33. Зинченко, А. И. Биопленки микроорганизмов и методы борьбы с ними / А. И. Зинченко // Микробные биотехнологии: фундаментальные и прикладные аспекты : сб. ст. / редкол.: Э. И. Коломиец [и др.]. – Минск, 2016. – Т. 8. – С. 334–352.

Поступила 15.12.2020 г.

Принята в печать 15.02.2021 г.

## References

1. VOZ, Evrop Region biuro. Antimicrobial resistance surveillance in Central Asia and Europe [Elektronnyi resurs]: CAESAR 2019 g: prakt posobie. Rezhim dostupa: [https://www.euro.who.int/\\_\\_data/assets/pdf\\_file/0013/430132/WHO-CAESAR-manual-2019-RUS.pdf](https://www.euro.who.int/__data/assets/pdf_file/0013/430132/WHO-CAESAR-manual-2019-RUS.pdf). Data dostupa: 26.01.2021. (In Russ.)
2. VOZ, Evrop Region komitet. European strategic action plan on antibiotic resistance [Elektronnyi resurs]: 61-ia ses, Baku, Azerbaidzhan, 2011 g. Rezhim dostupa: [https://www.euro.who.int/\\_\\_data/assets/pdf\\_file/0015/150612/RC61\\_Res\\_r06.pdf](https://www.euro.who.int/__data/assets/pdf_file/0015/150612/RC61_Res_r06.pdf). Data dostupa: 26.01.2021. (In Russ.)
3. Gavrilova IA, Titov LP. Resistance of hospital isolates of staphylococci and *Pseudomonas aeruginosa* to disinfectants. *Zdravookhranenie*. 2011;(11):18-20. (In Russ.)
4. Afinogenova AG, Darovskaia EN. Microbial biofilms of wounds: state of the art. *Travmatologiya i Ortopediya Rossii*. 2011;(3):119-25. (In Russ.)
5. Oliveira NM, Martinez-Garcia E, Xavier J, Durham WM, Kolter R, Kim W, et al. Biofilm formation as a response to ecological competition. *PLoS Biol*. 2015 Jul 9;13(7):e1002191. doi: 10.1371/journal.pbio.1002191
6. Shlepota NM, Peshikova MV, Kolesnikov OL, Shishkova IuS. Modern concepts of the mechanisms of interaction between biofilm and cellular immunity factors. *Zhurn Mikrobiologii Epidemiologii Immunologii*. 2020;97(1):83-90. (In Russ.)
7. Bukharin OV, Gintzburg AL, Romanova IuM, El-Registan GI. Bacterial survival mechanisms. Moscow, RF: Meditsina; 2005. 367 p. (In Russ.)
8. Biradar B, Devi P. Quorum sensing in plaque biofilms: challenges and future prospects. *J Contemp Dent Pract*. 2011 Nov;12(6):479-85. doi: 10.5005/jp-journals-10024-1080
9. Simonova IR, Golovin SN, Verkina LM, Bereznia EA, Titova SV. Cultivation and study methods of bacterial biofilms. *Izv Vyssh Ucheb Zavedenii Severo-Kavkaz Region Estestv Nauki*. 2017;(1):75-81. (In Russ.)
10. Hooshangi S, Bentley WE. From unicellular properties to multicellular behavior: bacteria quorum sensing circuitry and applications. *Curr Opin Biotechnol*. 2008 Dec;19(6):550-5. doi: 10.1016/j.copbio.2008.10.007
11. Hoiby N, Bjarnsholt T, Givskov M, Molin S, Ciofu O. Antibiotic resistance of bacterial biofilms. *Int J Antimicrob Agents*. 2010 Apr;35(4):322-32. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2009.12.011
12. Petrova OE, Sauer K. Escaping the biofilm in more than one way: desorption, detachment or dispersion. *Curr Opin Microbiol*. 2016 Apr;30:67-78. doi: 10.1016/j.mib.2016.01.004
13. Gopal R, Kim YG, Lee JH, Lee SK, Chae JD, Son BK, et al. Synergistic effects and antibiofilm properties of chimeric peptides against multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* strains. *Antimicrob Agents Chemother*. 2014;58(3):1622-9. doi: 10.1128/AAC.02473-13
14. Cherniavskii VI. Bacterial biofilms and infections. *Ann Mechnikov Inst*. 2013;(1):86-90. (In Russ.)
15. Mardanov AM, Kabanov DA, Rudakova NL, Sharipova MR. Biofilms: basic principles of organization and research methods: ucheb-metod posobie. Kazan, RF: Tsentr pechati Link; 2016. 48 p. (In Russ.)
16. Liuis K. Persistent cells and the mystery of biofilm survival. *Biokhimiia*. 2005;70(2):327-36. (In Russ.)
17. Lafleur MD, Qi Q, Lewis K. Patients with long-term oral carriage harbor high-persister mutants of *Candida albicans*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2010 Jan;54(1):39-44. doi: 10.1128/AAC.00860-09
18. Jorge P, Lourenco A, Pereira MO. New trends in peptide-based anti-biofilm strategies: a review of recent achievements and bioinformatic approaches. *Biofouling*. 2012;28(10):1033-61. doi: 10.1080/08927014.2012.728210
19. Volosach OS, Petrova SE, Markovich NS. Leading causative agents of urinary tract infections in patients of Grodno region in 2018 [Elektronnyi resurs]. V: Aktual'nye voprosy mikrobiologii, infektologii i immunologii: sb materialov mezvuz konf, posviashch pamiati prof SI Gel'berga, Grodno, 29 apr 2019 g. Grodno, RB; 2019. P. 30-3. 1 elektron opt disk. (In Russ.)
20. Pozdeev OK, Fedorov RV. Enterobacteriaceae: ruk dlia vrachei. Moscow, RF: GEOTAR-Media; 2007. 720 p. (In Russ.)
21. Donlan RM, Costerton JW. Biofilms: survival mechanisms of clinically relevant microorganisms. *Clin Microbiol Rev*. 2002 Apr;15(2):167-93. doi: 10.1128/cmr.15.2.167-193.2002
22. Delaloye J, Calandra T. Invasive candidiasis as a cause of sepsis in the critically ill patient. *Virulence*. 2014 Jan;5(1):161-9. doi: 10.4161/viru.26187
23. Mills BB. Vaginitis: beyond the basics. *Obstet Gynecol Clin North Am*. 2017 Jun;44(2):159-177. doi: 10.1016/j.ogc.2017.02.010



24. Sherry L, Kean R, McKloud E, O'Donnell LE, Metcalfe R, Jones BL, et al. Biofilms formed by isolates from recurrent vulvovaginal candidiasis patients are heterogeneous and insensitive to fluconazole. *Antimicrob Agents Chemother.* 2017 Aug 24;61(9):e01065-17. doi: 10.1128/AAC.01065-17
25. Bairamova GR, Baranov II, Pripitnevich TV, Chernova VF. Vulvovaginal candidiasis: clinical and therapeutic aspects in the practice of an obstetrician-gynecologist. *Akusherstvo i ginekologiya: novosti, mneniya, obucheniya.* 2017;(4):63-9. (In Russ.)
26. Kontsevaia II. Microbiology: Cultivation and Growth of Bacteria: prakt ruk dlia studentov biol spets vuzovia. Chernihiv, Ukraine: Desna poligraf; 2017. 44 p. (In Russ.)
27. Tapalskii DV, Bilskii IA. Determination of antibiotic susceptibility by broth microdilution: a modification available to all: modifikatsiia, dostupnaia dlia vsekh. *Klin Mikrobiologiya Antimikrob Khimioterapiia.* 2018;20(1):62-7. (In Russ.)
28. Biosan SIA. DEN-1 DEN-1B. Densitometer. Suspension turbidity detector [Elektronnyi resurs]: instruktsiia pol'zovatel'ia. Rezhim dostupa: [https://biosan.lv/media/products/files/den-1-den-1b-ru204-0319\\_D7XD9aA.pdf](https://biosan.lv/media/products/files/den-1-den-1b-ru204-0319_D7XD9aA.pdf). Data dostupa: 26.01.2021. (In Russ.)
29. Ramage G, Walle KV, Wickes BL, Lo'pez-Ribot JL. Standardized method for in vitro antifungal susceptibility testing of *Candida albicans* biofilms. *Antimicrob Agents Chemother.* 2001 Sep;45(9):2475-9. doi: 10.1128/aac.45.9.2475-2479.2001
30. Lysak VV, Zheldakova RA, Fomina OV. Microbiology: praktikum. Minsk, RB: BGU; 2015. 115 p. (In Russ.)
31. Sokolova TN. Microbial biofilms and methods for their detection. *Zhurn GrGMU.* 2014;(4):12-5. (In Russ.)
32. Pierce CG, Uppuluri P, Tristan AR, Wormley FL, Mowat E, Ramage G, et al. A simple and reproducible 96-well plate-based method for the formation of fungal biofilms and its application to antifungal susceptibility testing. *Nat Protoc.* 2008;3(9):1494-500. doi: 10.1038/nprot.2008.141
33. Zinchenko AI. Biofilms of microorganisms and methods of combating them. V: Kolomiets EI, Lobanok AG, Zinchenko AI, Galushko VM, Ivshina IB, Mikhailova RV, i dr, redkol. *Mikrobyne biotekhnologii: fundamental'nye i prikladnye aspekty: sb st. Minsk, RB; 2016. T 8. P. 334-52. (In Russ.)*

Submitted 15.12.2020

Accepted 15.02.2021

#### Сведения об авторах:

Артюх Т.В. – ассистент кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии им. С.И. Гельберга, Гродненский государственный медицинский университет,

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7368-0623>;

Соколова Т.Н. – к.м.н., доцент кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии им. С.И. Гельберга, Гродненский государственный медицинский университет,

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4075-4515>;

Островская О.Б. – к.м.н., доцент кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии им. С.И. Гельберга, старший научный сотрудник группы морфологии с электронной микроскопией научно-исследовательской лаборатории, Гродненский государственный медицинский университет,

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3513-2014>.

#### Information about authors:

Artsiukh T.V. – lecturer of the Chair of Microbiology, Virology and Immunology named after S.I. Gelberg, Grodno State Medical University,

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7368-0623>;

Sokolova T.N. – Candidate of Medical Sciences, associate professor of the Chair of Microbiology, Virology and Immunology named after S.I. Gelberg, Grodno State Medical University,

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4075-4515>;

Astrowskaja A.B. – Candidate of Medical Sciences, associate professor of the Chair of Microbiology, Virology and Immunology named after S.I. Gelberg, senior researcher of morphology group with electron microscopy of the Research Laboratory, Grodno State Medical University,

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3513-2014>;

**Адрес для корреспонденции:** Республика Беларусь, г.Гродно, 230009, ул. Горького, 80, Гродненский государственный медицинский университет, кафедра микробиологии, вирусологии и иммунологии им. С.И. Гельберга.

E-mail: [taniaartsiukh@gmail.com](mailto:taniaartsiukh@gmail.com) – Артюх Татьяна Валерьевна.

**Correspondence address:** Republic of Belarus, 230009, Grodno, 80 Gorky str., Grodno State Medical University, Chair of Microbiology, Virology and Immunology named after S.I. Gelberg. E-mail: [taniaartsiukh@gmail.com](mailto:taniaartsiukh@gmail.com) –Tatiana V. Artsiukh.

## СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ РЕЗУЛЬТАТОВ ОПЕРАТИВНОГО ЛЕЧЕНИЯ КОСТНЫХ КИСТ У ДЕТЕЙ

ХОТИМ О.А.<sup>1</sup>, АНОСОВ В.С.<sup>1</sup>, СЫЧЕВСКИЙ Л.З.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Гродненский государственный медицинский университет, г. Гродно, Республика Беларусь

<sup>2</sup>Гродненская областная детская клиническая больница, г. Гродно, Республика Беларусь

Вестник ВГМУ. – 2021. – Том 20, №1. – С. 55-61.

## COMPARATIVE ANALYSIS OF THE RESULTS OF SURGICAL TREATMENT FOR BONE CYSTS IN CHILDREN

HOTIM O.A.<sup>1</sup>, ANOSOV V.S.<sup>1</sup>, SYCHEVSKII L.Z.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Grodno State Medical University, Grodno, Republic of Belarus

<sup>2</sup>Grodno Regional Pediatric Clinical Hospital, Grodno, Republic of Belarus

Vestnik VGMU. 2021;20(1):55-61.

### Резюме.

Существуют как малоинвазивные (пункционные, инъекционные) методы лечения костных кист, так и травматичные, с резекцией патологического участка. Однако у каждого метода имеется ряд недостатков и определенный процент неудовлетворительных результатов. Учитывая данный факт, на базе УЗ «Гродненская областная детская клиническая больница» совместно с кафедрой травматологии, ортопедии и военно-полевой хирургии УЗ «Гродненский государственный медицинский университет» был разработан новый, минимально инвазивный метод комбинированной пластики костных кист у детей.

Цель – оценить результаты оперативного лечения пациентов с костными кистами.

Материал и методы. Нами изучены данные стационарных медицинских карт 34 пациентов с диагнозом «костная киста», прооперированных на базе УЗ «Гродненская областная детская клиническая больница» в период с 2015 по 2020 год. Были оценены отдаленные результаты оперативного лечения у 24 из 34 пациентов, которые явились на осмотр.

Результаты. Проведенный сравнительный анализ результатов оперативного лечения пациентов с костными кистами показывает, что комбинированная пластика костных кист является наиболее эффективным среди малоинвазивных, малотравматичных методов лечения данной патологии у детей. Положительный результат получен у 89% пациентов, прооперированных указанным методом. Данный положительный эффект достигается равномерной деструкцией лазерным излучением внутренней выстилки костной кисты, а также заполнением полости смесью, состоящей из измельченной губчатой аллогенной кости и аутогенного костного мозга.

Заключение. Губчатый аллогенный трансплантат является остеокондуктором, а его измельчение приводит к ускорению процессов регенерации и предотвращает осложнения, характерные для цельных трансплантатов, костный мозг выступает в качестве остеиндуктора.

*Ключевые слова:* костная киста, метод лечения, комбинированная пластика.

### Abstract.

There are a number of methods for bone cysts treatment: both minimally invasive (puncture, injections) and traumatic ones with resection of the pathological area. Every method, however, has its own disadvantages and certain percentage of insufficient results. Due to this fact in Grodno Regional Pediatric Clinical Hospital and at the Chair of Traumatology, Orthopedics & Military Surgery of Grodno State Medical University we have developed a new minimally invasive combined plastic method for treating bone cysts in children.

Objectives. To make a comparative analysis of the operative treatment results of patients with bone cysts.

Material and methods. We examined the data from medical histories of 34 patients with bone cysts who were operated in Grodno Regional Pediatric Clinical Hospital in the period from 2015 to 2020. We estimated remote results of operative

treatment in 24 out of 34 patients who came for medical examination.

Results. We made a comparative analysis of the operative treatment results of patients with bone cysts on the basis of which we can conclude that combined plastic method for treating bone cysts in children is the most effective one among other minimally invasive, minimally traumatic methods for treatment of such pathology in children. Positive results were obtained in 89% of patients who were operated using it. This positive effect is achieved by destruction of the inner shell with the use of laser radiation as well as cavity filling with crushed allogenic bone mixed with autogenous bone marrow. Allogenic bone is osteoconductor and its crushing leads to acceleration of regenerative process in bone tissue and prevents complications which are specific for whole bone grafts. Autogenous bone marrow is osteoinductor.

*Key words: bone cyst, method of treatment, combined plasty.*

Костная киста представляет собой патологическое остеолитическое образование, как правило, требующее оперативного лечения. В случае, когда размер костной кисты превышает более двух третей диаметра кости, образование локализуется в сегменте, испытывающем высокую нагрузку, при наличии выраженного стойкого болевого синдрома, а также при истончении кортикального слоя и, соответственно, высокого риска возникновения патологического перелома показания к хирургическому вмешательству при данной патологии являются абсолютными [1, 2].

В литературе можно встретить предположение, что возникновение патологического перелома на фоне костной кисты у ребенка способствует активации репаративных процессов костной ткани и самостоятельному закрытию полости. Однако существует и противоположное мнение, что костные кисты «закрываются» после патологического перелома менее чем в 5% случаев [3-6].

На сегодняшний день самые известные методы хирургического лечения костных кист у детей представлены операциями, заключающимися в удалении образования в пределах здоровой ткани с использованием различных трансплантатов, компрессионно-дистракционных аппаратов, и минимально инвазивные пункционные методы с введением в патологическую полость лекарственных веществ и биологических материалов [7, 8].

Не стоит забывать, что выполнение юретажа патологического участка у ребенка является весьма травматичным вмешательством, при этом существует большой риск повреждения сосудисто-нервных пучков, зон роста, а перестройка крупных цельных трансплантатов с последующим формированием костной ткани является долгим процессом. При анализе послеоперационных результатов в отдаленном периоде выяв-

лен значительный процент осложнений, таких как развитие укорочений, ложных суставов, деформаций, образование остаточных полостей [3, 9, 10].

Достаточно широко в сочетании с резекцией патологического участка кости применяются различные методы чрескостной фиксации аппаратом Илизарова. Использование аппаратов внешней фиксации для лечения костных кист позволяет в один этап скорректировать сопутствующую ортопедическую патологию, устранить деформацию сегмента, ликвидировать укорочение [11].

Б.Д. Ванчиков (1998), приводя результаты хирургического лечения костных кист у детей, указывает, что эффективность при экскохлеации составляет 40%, краевой резекции – 60%, внутриочаговой резекции – 83,3% и сегментарной резекции – 66,7%. Количество осложнений при краевых резекциях составляет 19,2%, при сегментарных резекциях – 66,7%. Полное восстановление структуры кости при ауто- и аллопластике происходит в течение 2-4 лет [11].

В последние годы наметился явный перевес в сторону пункционного метода лечения костных кист с введением в полость стероидного препарата. Основоположником данного метода является Scaglietti с соавторами (1979 г.). Принцип лечения заключается в уменьшении давления внутри костной полости, а введение стероидного препарата обеспечивает так называемый «простагландинный эффект». На практике количество манипуляций в среднем составляет 2-5 пункций с введением препарата. Однако мнение исследователей расходятся относительно числа пункций и инъекций. Одни считают, что закрытие костной полости может наступить только после выполнения минимум 3 инъекций [4], в то же время другие авторы утверждают, что данное число инъекций является максимальным, и, если

после них не наступает закрытие полости и ремоделирование костной ткани, необходимо прибегать к радикальному методу лечения [1].

Пункционно-инъекционный метод лечения костных кист у детей в настоящее время является одним из популярных методов лечения данной патологии благодаря своей относительной простоте выполнения, при этом риск повреждения зоны роста кости минимален, практически отсутствует послеоперационный рубец, ребенок непродолжительный период находится в стационаре и после выписки может вернуться к обычному образу жизни без нагрузки [3, 4, 9, 12, 13]. Однако, несмотря на весомые преимущества, положительный эффект от данного оперативного лечения находится в диапазоне 40-80% [4, 9]. К отрицательным сторонам пункционно-инъекционного метода относится неоднократное выполнение пункций под общим наркозом, возможное отрицательное влияние на растущий организм вводимых стероидов (системный ответ на стероиды) [4].

Другими веществами, используемыми для перкутанного лечения костных кист, является аутогенный костный мозг, деминерализованный костный матрикс, ингибиторы фибринолиза, гидроксиапатит, кальций сульфат, кальций фосфат и др. [1, 14].

К минимально инвазивным методам лечения костных кист также относится метод проточного дренирования, заключающийся в налаживании системы постоянного капельного орошения полости растворами с введением препаратов с целью снижения гидростатического давления в кисте, удаления продуктов распада, поддерживающих патологический процесс. Общее время дренирования составляет 9-10 дней с последующим заполнением полости кисты крошкой аллогенного деминерализованного костного матрикса. Положительный результат отмечен в 91,75% случаев [11]. Недостатком данного метода является длительность процедуры и дискомфорт для ребенка, а также неоднократное проведение общей анестезии.

Сподарь Д.М. в 2004 г. предложил новый, минимально инвазивный этиопатогенетически обоснованный метод хирургического лечения костных кист с применением высокоинтенсивного лазерного излучения (диодный лазер, длина волны 805 нм, мощность 20 Вт, воздействие осуществляется в несколько этапов), который заключается в коагуляции внутренней выстилки кисты,

которая представляет собой полупроницаемую мембрану, через которую жидкость поступает в полость без возможного обратного оттока. Оперативное вмешательство проводится под визуальным контролем с помощью видеоэндоскопа, вводимого в полость кисты через полые шурupy [15]. Недостатком метода является сохранение полости после вмешательства, отсутствие «каркаса» для образования новой костной ткани.

Несмотря на достаточно большое количество различных оперативных методов лечения костных кист у детей, у каждого из них имеется ряд недостатков и определенный процент неудовлетворительных результатов.

Учитывая данный факт, нами был разработан и внедрен в клиническую практику новый, минимально инвазивный комбинированный метод хирургического лечения костных кист у детей с применением высокоинтенсивного лазерного излучения и костной пластики.

Под контролем электронно-оптического преобразователя проводят пункцию и аспирацию содержимого костной кисты пункционной иглой. Установив дополнительную иглу, промывают полость аминокaproновой кислотой с гемостатической целью с последующей полной эвакуацией жидкостного содержимого кисты. Через одну из игл вводят световод диодного лазера и коагулируют внутреннюю выстилку костной кисты высокоинтенсивным лазерным излучением длиной волны 0,97 мкм, мощностью 20 Вт, в непрерывном режиме излучения, в несколько этапов поочередно через установленные иглы. Наличие более чем 1 иглы является обязательным критерием, так как при воздействии высокоинтенсивного лазерного излучения происходит дымо- и парообразование, таким образом, свободная игла необходима для отвода газов. После коагуляции внутренней выстилки костной кисты под контролем электронно-оптического преобразователя перфорируют стенку кисты троакаром диаметром 5,5 мм. Из пунктата костного мозга области крыла подвздошной кости и измельченного губчатого аллогенного костного трансплантата готовят материал для заполнения дефекта. Проводят заполнение костной полости приготовленной смесью через тубус диаметром 5,5 мм либо через воронку с соответствующим внутренним диаметром рабочей части. Степень заполнения полости кисты оценивают электронно-оптическим преобразователем. В послеоперационном периоде рекомендуется иммобилизация пораженного сегмента в подкла-

дочной гипсовой повязке, которая соответствует правилам наложения гипсовых повязок при переломах в месте локализации кисты, в течение 4 недель [16, 17].

Целью данного исследования является проведение сравнительного анализа результатов оперативного лечения пациентов с костными кистами.

## Материал и методы

Нами проанализированы данные стационарных медицинских карт 34 пациентов с диагнозом «костная киста», прооперированных на базе УЗ «Гродненская областная детская клиническая больница» в период с 2015 по 2020 год. Были оценены отдаленные результаты оперативного лечения, проведена их сравнительная характеристика у 24 из 34 пациентов, которые явились на осмотр.

## Результаты и обсуждение

Средний возраст пациентов составил 11 лет (от 1 года до 17 лет). Из 34 детей 13 было женского пола (38%) и 21 – мужского (62%). Диагноз «костная киста» был верифицирован при выполнении рентген-компьютерной томографии и по данным, полученным после выполнения цитологического исследования пунктата содержимого костной кисты. У 13 пациентов костная киста была аневризмальной (38%), у 21 пациента – солитарной (62%). Локализовалась костная киста в области плечевой кости у 13 человек (38%), в области пятки – 6 (17,5%), в области большеберцовой кости – 5 (15%), в области малоберцовой кости – 5 (15%), в области бедренной кости – 3 (9%), в области лучевой кости – 1 (2,75%), в надколеннике у 1 пациента (2,75%). При поступлении жалобы на болевой синдром предъявляло 18 детей (53%). При сборе анамнеза патологический перелом встречался у 15 человек (44%), что и явилось поводом для первичного обращения к ортопеду-травматологу, у 10 детей (29%) костная киста была выявлена ввиду наличия длительного болевого синдрома в области образования от нескольких месяцев до года и у 9 пациентов (27%) костная киста являлась рентгенологической находкой. Во время осмотра отек в области образования, увеличение в объеме сегмента с костной кистой было выявлено у 2 пациентов (5,5%), боль в области образования при пальпации и при активных и пассивных движениях – у

15 (44%), ограничение движения в конечности либо в прилегающем к образованию суставе – у 4 детей (11%). Всем пациентам выполнялся ряд стандартных лабораторных исследований с целью предоперационной подготовки. Результаты данных исследований у всех детей были в пределах возрастной нормы. Также всем пациентам выполнялись рентгенограммы пораженного сегмента в 2-х проекциях.

Первично большинство пациентов было прооперировано с использованием минимально инвазивных методов: остеоперфорация стенки костной кисты и промывание полости аминокислотной кислотой – 13 (38,2%), остеоперфорация и введение стероида – 1 (2,9%), вапоризация высокоинтенсивным лазерным излучением – 12 (35,5%), комбинированная пластика – 5 (14,7%). Резекция патологического участка с костной аллопластикой первично была выполнена 1 пациенту (2,9%) и резекция патологического участка без костной пластики была выполнена 2 пациентам (5,8%).

В период с сентября по ноябрь 2020 года на осмотр из 34 пациентов прибыли 24 человека. Данные пациенты были осмотрены, опрошены, им были выполнены контрольные рентгенограммы с целью оценки послеоперационных результатов.

Результаты первичного оперативного лечения распределились следующим образом. 10 пациентам была выполнена остеоперфорация, только у 1 пациента (10%) положительный результат, закрытие полости костной кисты и ремоделирование костной ткани, после однократной манипуляции. Положительный результат после однократной вапоризации костной кисты был отмечен у 1 пациента (16,6%) из 6. 5 пациентам первично была выполнена комбинированная пластика костной кисты, у всех пациентов (100%) результат положительный, через 3 месяца после оперативного лечения рентгенологически отмечено устранение полости и ремоделирование костной ткани. 3 пациентам выполнялась резекция патологического участка (1 пациенту с аллопластикой, 1 без трансплантации костного фрагмента), у данных пациентов положительный результат оперативного лечения, однако имеется грубый послеоперационный гипертрофический рубец протяженностью около 10 см.

Также у данных 24 пациентов была выполнена оценка результатов не только первичных оперативных вмешательств, но и повторных. По-

Таблица 1 – Результаты оперативного лечения костных кист у детей

	Остеоперфорация		Вапоризация		Комбинированная пластика		Резекция	
	Число	(%)	Число	(%)	Число	(%)	Число	(%)
Однократное одноклеточное вмешательство	1 из 10	10	1 из 7	14	8 из 9	89	2 из 3	67
Неоднократное одноклеточное вмешательство (3 и более)	2 из 5	40	-	-	-	-	-	-

положительный результат лечения костных кист был отмечен у 14 из 24 прооперированных детей (58%), у 10 (42%) – результат отрицательный даже после неоднократных оперативных вмешательств. Данные представлены в таблице 1.

### Заключение

Несмотря на достаточно большое количество различных оперативных методов лечения костных кист у детей, у каждого из них имеется ряд недостатков и определенный процент неудовлетворительных результатов. После проведенного сравнительного анализа результатов оперативного лечения пациентов с костными кистами можно сделать вывод, что комбинированная пластика костных кист является наиболее эффективным среди малоинвазивных, малотравматичных методов лечения данной патологии у детей. Положительный результат получен у 89% пациентов, прооперированных данным методом. Положительный эффект достигается равномерной деструкцией лазерным излучением внутренней выстилки костной кисты и использованием крошки губчатой аллогенной кости вместе с аутогенным костным мозгом для заполнения полости. Измельченная губчатая аллогенная кость выступает в роли остеокондуктора, при этом измельчение аллотрансплантата способствует уменьшению продолжительности перестройки последнего и ускоряет регенеративный процесс, а также исключает возникновение осложнений, которые характерны для крупных трансплантатов; аутогенный костный мозг обладает остеиндуктивными свойствами. Дополнительным преимуществом предложенного метода является стимулирующее воздействие на репаративно-регенераторную функцию костной ткани.

### Литература

1. Canale, S. T. Campbell's operative orthopedics / S. T. Canale,

- J. H. Beaty ; ed. K. Daugherty. – 12th ed. – Philadelphia : Elsevier Mosby, 2013. – 4637 p.
2. Weinstein, S. L. Lovell and Winter's pediatric orthopedics / S. L. Weinstein, J. M. Flynn. – 7th ed. – Philadelphia : Lippincott Williams and Wilkins : Wolters Kluwer business, 2014. – 2544 p.
3. Вердиев, Ф. В. Кисты костей у детей и подростков (обзор литературы) / Ф. В. Вердиев // Ортопедия, травматология и протезирование. – 2014. – № 2. – С. 135–140.
4. Tachdjian's Pediatric Orthopaedics: From the Texas Scottish Rite Hospital for Children / ed. J. A. Herring. – 5th ed. – Philadelphia : Elsevier Saunders, 2014. – 1696 p.
5. Clinical factors affecting pathological fracture and healing of unicameral bone cysts / H. Urakawa [et al.] // BMC Musculoskelet. Disord. – 2014 May. – Vol. 15. – P. 159.
6. Does fracture affect the healing time or frequency of recurrence in a simple bone cyst of the proximal femur? / S. M. Cha [et al.] // Clin. Orthop. Relat. Res. – 2014 Oct. – Vol. 472, N 10. – P. 3166–3176.
7. Surgical treatment of an aneurismal bone cyst with avascular bone graft / A. Ulici [et al.] // Chirurgia (Bucur). – 2017 Mar-Oct. – Vol. 112, N 2. – P. 172–177.
8. Treatment of pathological fractures due to simple bone cysts by extended curettage grafting and intramedullary decompression / B. Erol [et al.] // Acta Orthop. Traumatol. Turc. – 2015. – Vol. 49, N 3. – P. 288–296.
9. Solitary bone cyst: a comparison of treatment options with special reference to their long-term outcome / F. Traub [et al.] // BMC Musculoskelet. Disord. – 2016 Apr. – Vol. 17. – P. 162.
10. Unicameral (simple) and aneurismal bone cysts: the effect of insufficient curettage on recurrence / S. Celik [et al.] // Pan Afr. Med. J. – 2016 Aug. – Vol. 24. – P. 311.
11. Демичев, Н. П. Диагностика и криохирургия костных кист / Н. П. Демичев, А. Н. Тарасов. – Москва : МЕДпресс-информ, 2005. – 144 с.
12. Comparison of titanium elastic intramedullary nailing versus injection of bone marrow in treatment of simple bone cysts in children: a retrospective study / W. Li [et al.] // BMC Musculoskelet. Disord. – 2016 Aug. – Vol. 17, N 1. – P. 343.
13. Flont, P. Factors predictive of positive response to steroid therapy in simple bone cysts: an old trick that still works / P. Flont, M. Kolacinska-Flont, K. Niedzielski // Int. Orthop. – 2013. – Vol. 37, N 8. – P. 1519–1525.
14. Determining the best treatment for simple bone cyst: a decision analysis / S. Y. Lee [et al.] // Clin. Orthop. Surg. – 2014 Mar. – Vol. 6, N 1. – P. 62–71.
15. Способ хирургического лечения дистрофических костных кист у детей : пат. 2002127572 Рос. Федерация : МПК A61B17/56, A61B18/20 / Д. В. Сподарь. – № C1/02217088 ; заявл. 14.10.02 ; опубл. 10.04.04.

16. Хотим, О. А. Комбинированный метод хирургического лечения костных кист с использованием высокоинтенсивного лазерного излучения и костной пластикой : инструкция по применению № 112-1018 : утв. М-вом здравоохранения Респ. Беларусь 30.11.18 г. / О. А. Хотим, В. С. Аносов, Л. З. Сычевский. – Гродно : ГрГМУ, 2018. – 9 с.
17. Способ комбинированной пластики костных кист у детей : пат. 23028 BY : МПК А 61 В 17/56, А 61 В 18/20 (2006.01) / О. А. Хотим, В. С. Аносов, Л. З. Сычевский, П. А. Авдейчик, А. В. Глуткин. – № а 20180048 ; заявл. 12.02.18 ; опубл. 30.06.20, Афіц. бюл. № 3. – 4 с.

*Поступила 07.12.2020 г.  
Принята в печать 15.02.2021 г.*

## References

1. Canale ST, Beaty JH; Daugherty K, ed. Campbell's operative orthopedics. 12th ed. Philadelphia: Elsevier Mosby; 2013. 4637 p.
2. Weinstein SL, Flynn JM. Lovell and Winter's pediatric orthopedics. 7th ed. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins: Wolters Kluwer business; 2014. 2544 p.
3. Verdiev FV. Bone cysts in children and adolescents (literature review). Ortopediia Travmatologiya Protezirovaniye. 2014;(2):135-40. (In Russ.)
4. Herring JA, ed. Tachdjian's Pediatric Orthopaedics: From the Texas Scottish Rite Hospital for Children. 5th ed. Philadelphia: Elsevier Saunders; 2014. 1696 p.
5. Urakawa H, Tsukushi S, Hosono K, Sugiura H, Yamada K, Yamada Y, et al. Clinical factors affecting pathological fracture and healing of unicameral bone cysts. BMC Musculoskelet Disord. 2014 May;15:159. doi: 10.1186/1471-2474-15-159
6. Cha SM, Shin HD, Kim KC, Park JW. Does fracture affect the healing time or frequency of recurrence in a simple bone cyst of the proximal femur? Clin Orthop Relat Res. 2014 Oct;472(10):3166-76. doi: 10.1007/s11999-014-3768-6
7. Ulici A, Nahoi C, Carp M, Fodor I, Dinu C. Surgical treatment of an aneurismal bone cyst with avascular bone graft. Chirurgia (Bucur). 2017 Mar-Apr;112(2):172-177. doi: 10.21614/chirurgia.112.2.172
8. Erol B, Onay T, Çalışkan E, Aydemir AN, Topkar OM. Treatment of pathological fractures due to simple bone cysts by extended curettage grafting and intramedullary decompression. Acta Orthop Traumatol Turc. 2015;49(3):288-96. doi: 10.3944/AOTT.2015.14.0108
9. Traub F, Eberhardt O, Fernandez FF, Wirth T. Solitary bone cyst: a comparison of treatment options with special reference to their long-term outcome. BMC Musculoskelet Disord. 2016 Apr;17:162. doi: 10.1186/s12891-016-1012-0
10. Çelik S, Uludağ A, Tosun HB, Serbest S, Gürger M, Kılıç S. Unicameral (simple) and aneurismal bone cysts: the effect of insufficient curettage on recurrence. Pan Afr Med J. 2016 Aug;24:311. doi: 10.11604/pamj.2016.24.311.9624
11. Demichev NP, Tarasov AN. Diagnostics and cryosurgery of bone cysts. Moscow, RF: MEDpres-inform; 2005. 144 p. (In Russ.)
12. Li W, Xu R, Du M, Chen H. Comparison of titanium elastic intramedullary nailing versus injection of bone marrow in treatment of simple bone cysts in children: a retrospective study. BMC Musculoskelet Disord. 2016 Aug;17(1):343. doi: 10.1186/s12891-016-1184-7
13. Flont P, Kolacinska-Flont M, Niedzielski K. Factors predictive of positive response to steroid therapy in simple bone cysts: an old trick that still works. Int Orthop. 2013 Aug;37(8):1519-25. doi: 10.1007/s00264-013-1912-7
14. Lee SY, Chung CY, Lee KM, Sung KH, Won SH, Choi IH, et al. Determining the best treatment for simple bone cyst: a decision analysis. Clin Orthop Surg. 2014 Mar;6(1):62-71. doi: 10.4055/cios.2014.6.1.62
15. Spodar DV. Method for surgical treatment of dystrophic bone cysts in children: pat 2002127572 Ros Federatsiia: MPK A61B17/56, A61B18/20. № S1/02217088; zaiavl 14.10.02; opubl 10.04.04. (In Russ.)
16. Khotim OA, Anosov VS, Sychevskii LZ. Combined method of surgical treatment of bone cysts using high-intensity laser radiation and bone grafting: instruktsiia po primeneniiu № 112-1018: utv M-vom zdravookhraneniia Resp Belarus' 30.11.18 g. Grodno, RB: GrGMU, 2018. 9 p. (In Russ.)
17. Khotim OA, Anosov VS, Sychevskii LZ, Avdeichik PA, Glutkin AV. Method of combined plastics of bone cysts in children: pat 23028 BY: MPK A 61 B 17/56, A 61 B 18/20 (2006.01). № а 20180048; zaiavl 12.02.18; opubl 30.06.20, Afits biul № 3. 4 p. (In Russ.)

*Submitted 07.12.2020  
Accepted 15.02.2021*

## Сведения об авторах:

Хотим О.А. – ассистент кафедры травматологии, ортопедии и военно-полевой хирургии, Гродненский государственный медицинский университет;  
Аносов В.С. – к.м.н., доцент, проректор по учебной работе, Гродненский государственный медицинский университет;  
Сычевский Л.З. – к.м.н., заведующий отделением травматологии и ортопедии, Гродненская областная детская клиническая больница.

## Information about authors:

Hotim O.A. – lecturer of the Chair of Traumatology, Orthopedics & Military Surgery, Grodno State Medical University;  
Anosov V.S. – Candidate of Medical Sciences, associate professor, pro-rector for academic affairs, Grodno State Medical University;  
Sychevskii L.Z. – Candidate of Medical Sciences, head of the traumatologic and orthopedic department, Grodno Regional Pediatric Clinical Hospital.

**Адрес для корреспонденции:** Республика Беларусь, 230009, г. Гродно, ул. М. Горького, 80, Гродненский государственный медицинский университет, кафедра травматологии, ортопедии и ВПХ. E-mail: olgasergey89@gmail.com – Хотим Ольга Анатольевна.

**Correspondence address:** Republic of Belarus, 230009, Grodno, 80 Gorky str., Grodno State Medical University, Chair of Traumatology, Orthopedics & Military Surgery. E-mail: olgasergey89@gmail.com – Olga A. Hotim.



## МУЛЬТИФОКАЛЬНЫЙ АТЕРОСКЛЕРОЗ: ХИРУРГИЧЕСКОЕ ЛЕЧЕНИЕ СОЧЕТАННОГО АТЕРОСКЛЕРОТИЧЕСКОГО ПОРАЖЕНИЯ СОННЫХ И МАГИСТРАЛЬНЫХ АРТЕРИЙ НИЖНИХ КОНЕЧНОСТЕЙ

ЯНУШКО В.А.<sup>1</sup>, КЛИМЧУК И.П.<sup>2</sup>, КОРДЗАХИЯ Г.Э.<sup>2</sup>, ПОПЕЛЬ Г.А.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Республиканский научно-практический центр «Кардиология», г. Минск, Республика Беларусь

<sup>2</sup>4-я городская клиническая больница им Н.Е. Савченко, г. Минск, Республика Беларусь

Вестник ВГМУ. – 2021. – Том 20, №1. – С. 62-71.

## MULTIFOCAL ATHEROSCLEROSIS: SURGICAL TREATMENT OF COMBINED ATHEROSCLEROTIC LESION OF THE CAROTID AND MAIN ARTERIES OF THE LOWER EXTREMITIES

YANUSHKO V.A.<sup>1</sup>, KLIMCHUK I.P.<sup>2</sup>, KORDZAKHIA G.E.<sup>2</sup>, POPEL G.A.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Republican Research Center «Cardiology», Minsk, Republic of Belarus

<sup>2</sup>The 4th City Clinical Hospital named after N.E. Savchenko, Minsk, Republic of Belarus

Vestnik VGMU. 2021;20(1):62-71.

### Резюме.

Сердечно-сосудистые заболевания (ССЗ) на протяжении многих лет остаются основной причиной смертности во всем мире. В Европейском Союзе, несмотря на недавнее снижение уровня смертности во многих странах, на ССЗ все еще приходится около половины (46%) всех смертей, большинство из которых обусловлены атеросклерозом. Атеросклероз – это хроническое прогрессирующее заболевание, которое может поражать любой сосудистый бассейн (коронарные, сонные, висцеральные и периферические артерии нижних конечностей) как изолированно, так и несколько артериальных зон одновременно. Наличие атеросклеротического поражения одного сосудистого бассейна свидетельствует о повышенном риске вовлечения другого. Распространенность мультифокального атеросклеротического поражения в популяции варьирует от 6% до 71%, в зависимости от возрастной группы населения, в котором проводилось исследование, а также дизайна исследования. Пациенты с мультифокальным атеросклерозом имеют высокий профиль риска и худший прогноз течения заболевания, чем пациенты с поражением одного сосудистого бассейна.

*Ключевые слова:* мультифокальный атеросклероз, ишемическая болезнь сердца, стеноз сонной артерии, перемежающаяся хромота.

### Abstract.

Cardiovascular diseases (CVD) have been for many years the major cause of deaths in the whole world. In the European Union, despite recent decreases of mortality rate in many countries, CVD are still responsible for about half (46%) of all deaths, the majority of them being caused by atherosclerosis. Atherosclerosis is a chronic progressive disease which can affect any vascular bed (coronary, cerebrovascular, visceral, peripheral arterial) as a single disease, but it can also occur in more than one area as a polyvascular disease. The presence of atherosclerotic disease in one vascular bed frequently indicates an increased risk for its development in the other one. The prevalence of multifocal atherosclerotic lesion varies from 6% to 71%, depending on the age group of the population in which the study was conducted as well as on the study design. Polyvascular disease patients have a high risk profile and a worse prognosis of the disease course compared to the patients with the lesion of only one vascular bed.

*Key words:* multifocal atherosclerosis, ischemic heart disease, carotid stenosis, claudication.

Атеросклероз, являясь хроническим заболеванием, возникает в результате нарушения белкового и липидного обмена, характеризуется поражением артерий и приводит к нарушениям органного либо общего кровообращения [1]. Основными чертами атеросклероза являются постоянное прогрессирование и множественность поражения магистральных артерий различных бассейнов. Заболевания артерий нижних конечностей (ЗАНК) являются одним из клинических проявлений атеросклероза и встречаются в возрастной группе 60-90 лет у 10-18% населения с наличием симптомов перемежающей хромоты (ПХ) у каждого третьего пациента с ЗАНК [2, 3]. Другим клинически значимым проявлением атеросклероза является цереброваскулярная болезнь (ЦВБ), приводящая к развитию тяжелых неврологических нарушений – инфаркте головного мозга (ИГМ) и транзиторной ишемической атаке (ТИА). Частота развития инфаркта мозга в странах Европейского Союза составляет 0,2% от общего количества населения и составляет около 1,4 миллиона случаев в год [4]. Третья часть случаев ИГМ и ТИА обусловлена поражением экстракраниальных отделов брахиоцефальных артерий (БЦА), чаще всего стенозом сонных артерий (ССА). В Республике Беларусь ежегодно регистрируется около 30 тысяч случаев инфарктов мозга, причем две трети из них – это первичные заболевания [5]. Симптомы ПХ имеются более чем у 100 тысяч пациентов в РБ. Атеросклеротическое поражение нижних конечностей эволюционирует в критическую ишемию нижних конечностей (КИНК) у 20-70% пациентов и составляет от 500 до 1000 новых случаев в год на миллион населения [6]. Встречаемость ССА  $\geq 70\%$  у пациентов с ЗАНК составляет 14% [7]. Таким образом, в настоящее время в РБ насчитывается около 14 тысяч пациентов с симптомным ЗАНК и гемодинамически значимым стенозом каротидных артерий. Выбор оптимальной лечебной тактики у данной группы пациентов сопряжен со значительными трудностями из-за определения приоритетности реваскуляризации того либо иного бассейна и неблагоприятным исходом течения заболевания, частота которого составляет 21,14% [8]. Принятие решения в случае изолированного выраженного симптомного поражения сонных артерий представляется наименее сложной задачей, т.к. алгоритм ее решения хорошо отработан и является эффективным в подавляющем большинстве случаев (рис. 1) [9]. Вмешательства на

сонных артериях – каротидная эндартерэктомия (КЭЭ) и каротидное стентирование (КС) – являются одними из наиболее радикальных мер по вторичной профилактике ИМГ и ТИА. В то же время, реконструктивные операции у пациентов с ЗАНК позволяют снизить количество ампутаций и связанных с ней инвалидизации и смертности. Однако коморбидность и тяжесть состояния пациентов с мультифокальным атеросклерозом зачастую требуют выявления зон, подлежащих приоритетной реконструкции. Наиболее сложной задачей является выработка лечебной тактики у пациентов без предшествующей неврологической симптоматики, ССА  $\geq 60\%$  и ЗАНК с хронической ишемией нижних конечностей от 2Б степени и выше [10, 11].

Цель работы – проанализировать результаты хирургического лечения пациентов в зависимости от степени поражения сонных артерий и артерий нижних конечностей.

## Материал и методы

Исследование носило характер двухцентрового ретроспективного когортного без группы сравнения. В 2015-2019 годах в отделении сосудистой хирургии УЗ «4-я ГКБ им. Н.Е. Савченко» и 1 кардиохирургическом отделении ГУО РНПЦ «Кардиология» были пролечены 180 пациентов с сочетанным атеросклеротическим поражением сонных артерий и артерий нижних конечностей. Оперативные вмешательства у пациентов с ССА и ЗАНК выполнялись врачами-ангиохирургами на базе двух минских учреждений здравоохранения: УЗ «4-я ГКБ им. Н.Е. Савченко» и ГУ РНПЦ «Кардиология». Предоперационное обследование включало сбор анамнеза (в том числе получение информации о ранее выполненных операциях на различных артериальных бассейнах), выявление клинических симптомов и признаков мультифокального атеросклеротического поражения, ультразвуковое дуплексное сканирование брахиоцефальных артерий (БЦА) и магистральных артерий нижних конечностей (МАНК) с определением лодыжечно-плечевого индекса (ЛПИ), ЭхоКГ, брюшную аортографию с ангиографией нижних конечностей, рентгенконтрастную ангиографию БЦА или КТ-ангиографию БЦА (по показаниям), лабораторные анализы (липидограмма, СРБ), клиническую оценку ХСМН и ХАН по классификации А.В. Покровского.

Показанием для выполнения ангиогра-

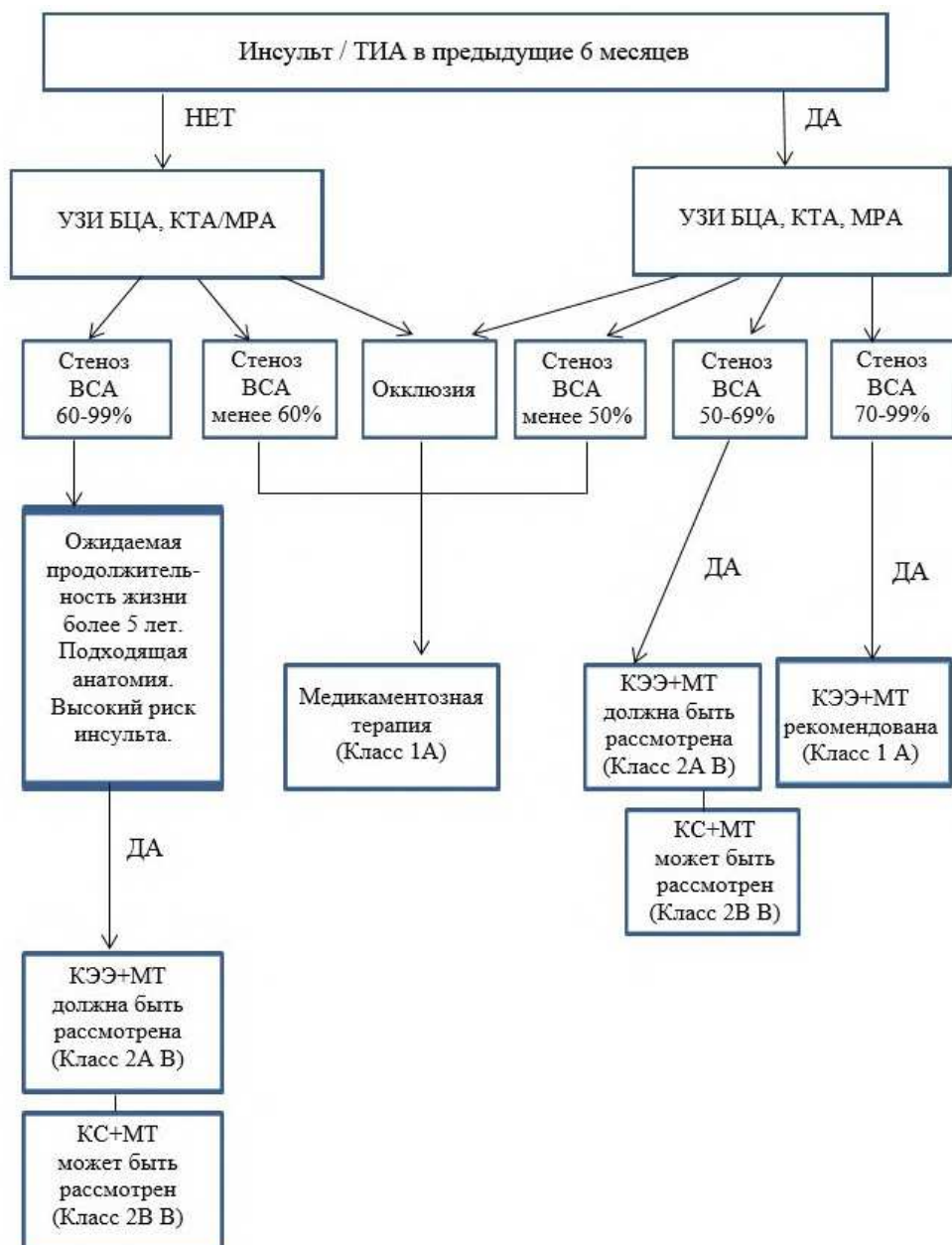


Рисунок 1 – Алгоритм ведения пациентов с атеросклеротическим поражением сонных артерий (Европейское общество сосудистых хирургов) [9].

фии БЦА являлось наличие значимого ССА с предварительно установленной по данным УЗИ БЦА возможностью эндоваскулярного лечения у пациентов с КИНК и тяжелой сопутствующей патологией. КТ-ангиографию БЦА выполняли пациентам с окклюзией или субокклюзией сонной артерии и критическим стенозом контралатеральной сонной артерии. Пациентам с ИБС, которым по ЭхоКГ были выявлены зоны гипокинеза или сниженная фракция выброса, выполняли коронароангиографию.

Контрольные обследования пациентов выполнены перед выпиской из стационара (10±2 дня) и через месяц после выписки из стационара.

Критерии включения пациентов в исследование были следующими: возраст старше 40 лет, наличие ССА (симптомного или асимптомного) требующего хирургического лечения, и наличие ЗАНК 26-4 ст. по классификации Покровского. Симптомными пациентами считались пациенты, которые в течение ближайших 6 месяцев перенесли ТИА или транзиторную монокулярную

слепоту и у которых в анамнезе был перенесен ИГМ. Пациенты были информированы о сути заболевания, этапности и технике выполнения хирургических вмешательств, возможных осложнениях и побочных эффектах операций. Критериями исключения из исследования являлись изолированное поражение одного артериального бассейна, послеоперационный рестеноз ВСА, двухсторонняя окклюзия СА, ЗАНК сЛПИ $\geq$ 0,9, ИБС, требующая хирургического лечения.

Статистический анализ полученных данных выполнен на персональном компьютере при помощи программы Statistica 10,0 (StatSoftInc., США, лицензия №АХХR012E839529FA). Нормальность распределения признаков оценивалась при помощи метода Шапиро-Уилка. В случае нормального распределения данные представлены  $M \pm m$ , где  $M$  – среднее арифметическое,  $m$  – ошибка среднего арифметического. Если данные не подчинялись закону нормального распределения, они были представлены в виде  $Me$  (25%-75%), где  $Me$  – медиана, а 25%-75% – 25 и 75 процентиля. Анализ статистической значимости межгрупповых различий количественных признаков, не соответствующих закону нормального распределения, определяли с помощью U-теста Манна-Уитни. При сравнении качественных признаков использовался критерий  $\chi^2$  Пирсона. Результаты считали достоверно значимыми при  $p < 0,05$ .

### **Описание и характеристика клинических групп.**

По характеру атеросклеротического поражения БЦА и МАНК пациенты были ретроспективно разделены на клинические группы (табл. 1).

Первая группа: симптомные пациенты со ССА $\geq$ 70% и ЗАНК 2Б степени. Вторая группа включала в себя симптомных пациентов со ССА $\geq$ 70% и ЗАНК 3-4 степени (пациенты с КИНК). Третья группа: асимптомные пациенты со ССА $\geq$ 70% и ЗАНК 2Б степени. В четвертую группу вошли асимптомные пациенты со ССА $\geq$ 70% и ЗАНК 3-4 степени.

В первую группу вошло 37 пациентов. Мужчин было 30, женщин 7. Средний возраст составил  $67 \pm 6$  лет. Анамнез заболевания составил  $5 \pm 1,2$  года. Курящих (в настоящее время или бросивших курить менее 12 месяцев назад) было 65%. Средний индекс массы тела (ИМТ) –  $31 \pm 4$ . При этом уровень ЛПНП, как наиболее атерогенной фракции, был равен  $3,8 \pm 0,9$  ммоль/л. Маркер системной воспалительной реакции,

С-реактивный белок (СРБ), был повышен незначительно –  $6,7 \pm 1,2$  мг/л. Сопутствующая ИБС отмечена у 66% пациентов группы, со средней фракцией выброса ФВ  $63 \pm 7,2\%$ , что потребовало выполнения коронароангиографии (КАГ) у 37% пациентов. Среднее значение ЛПИ составило  $0,76 \pm 0,05$ . Средний процент стеноза заинтересованной ВСА был равен  $78 \pm 4,3\%$ , с ускорением до  $298 \pm 25$  см/с. Для уточнения характера и степени поражения БЦА 14% пациентов группы было выполнено ГАГ+БЦА и 25% пациентам КТА БЦА. Из сопутствующей патологии сахарный диабет выявлен у 9% пациентов, ХБП – 2%, ФП – 6%, АГ – 100%, ТИА – 70%, ИМ – 14%, ИГМ – 30% (табл. 2).

Во вторую группу включили 42 пациента. Мужчин было 37, женщин 5. Средний возраст –  $63 \pm 4$  года. Анамнез заболевания –  $8 \pm 2,2$  года. Курящих (в настоящее время или бросивших курить менее 12 месяцев назад) было 85%. Средний индекс массы тела (ИМТ) составил  $28 \pm 5$ . При этом уровень ЛПНП был равен  $2,8 \pm 1,2$  ммоль/л. СРБ был повышен и составил  $16,7 \pm 2,2$  мг/л. Сопутствующая ИБС отмечена у 79% пациентов группы, со средней фракцией выброса ФВ  $53 \pm 8,2\%$ , что потребовало выполнения коронароангиографии (КАГ) у 52% пациентов. Среднее значение ЛПИ –  $0,43 \pm 0,14$ . Средний процент стеноза заинтересованной ВСА был равен  $82 \pm 7,8\%$ , с ускорением до  $368 \pm 67$  см/с. Для уточнения характера и степени поражения БЦА 25% пациентов группы было выполнено ГАГ+БЦА и 35% пациентам КТА БЦА. Из сопутствующей патологии сахарный диабет выявлен у 21% пациентов, ХБП – 6%, ФП – 11%, АГ – 100%, ТИА – 76%, ИМ – 23%, ИГМ – 24%.

Третья группа включала в себя 51 пациента. Мужчин было 41, женщин 10. Средний возраст –  $65 \pm 3,3$  года. Анамнез заболевания составил  $4 \pm 1,2$  года. Курящих (в настоящее время или бросивших курить менее 12 месяцев назад) было 55%. Средний индекс массы тела (ИМТ) –  $27 \pm 5$ . При этом уровень ЛПНП был равен  $3,2 \pm 1,1$  ммоль/л. СРБ был повышен и составил  $5,7 \pm 1,2$  мг/л. Сопутствующая ИБС отмечена у 43% пациентов группы, со средней фракцией выброса ФВ  $59 \pm 10,2\%$ , что потребовало выполнения коронароангиографии (КАГ) у 12% пациентов. Среднее значение ЛПИ составило  $0,76 \pm 0,18$ . Средний процент стеноза заинтересованной ВСА был равен  $72 \pm 2,3\%$ , с ускорением до  $229 \pm 17$  см/с. Для уточнения характера и степени поражения БЦА 9%

Таблица 1 – Характеристика клинических групп

Параметры	1 группа (n=37) симптомные пациенты со ССА $\geq 70\%$ и ЗАНК 2Б	2 группа (n=42) симптомные пациенты со ССА $\geq 70\%$ и ЗАНК 3-4 ст	3 группа (n=51) асимптомные пациенты со ССА $\geq 70\%$ и ЗАНК 2Б степени	4 группа (n=50) асимптомные пациенты со ССА $\geq 70\%$ и ЗАНК 3-4 степени	Р-величина
Средний возраст, лет	67 +/- 7 лет	63 +/- 4 года	65 +/- 3,3 года	68 +/- 3,3 года	0,12
М	30	43	41	43	0,41
Ж	7	5	10	7	0,58
Средняя длительность заболевания, лет	5 +/- 1,2	8 +/- 2,2	4 +/- 1,2	6 +/- 1,2	0,13
Курение, %	65%	85%	55%	75%	0,81
ИМТ, кг/м <sup>2</sup>	31 +/- 4	28 +/- 5	27 +/- 5	29 +/- 3	0,02
ЛПНП, ммоль/л	3,8 +/- 0,9	4,8 +/- 1,2	3,2 +/- 1,1	3,7 +/- 1,1	0,74
СРБ, мг/л	6,7 +/- 1,2	16,7 +/- 2,2	5,7 +/- 1,2	9,7 +/- 1,3	0,99
ФВ, %	63 +/- 7,2	53 +/- 8,2	59 +/- 10,2	55 +/- 10,2	0,37
ЛПИ	0,76 +/- 0,05	0,43 +/- 0,14	0,76 +/- 0,18	0,46 +/- 0,18	0,97
Средний ССА, %	78 +/- 4,3	82 +/- 7,8	72 +/- 2,3	73 +/- 1,3	0,27
МАХ линейная скорость в зоне стеноза СА, см/с	298 +/- 25	368 +/- 67	229 +/- 17	246 +/- 25	0,68
ГАГ + БЦА, %	14	25	9	8	0,99
КАГ, %	37	52	12	13	0,23
КТА БЦА, %	25	35	15	14	0,26

Примечание: по всем признакам группы статистически не различались,  $p > 0,05$ .

Таблица 2 – Сопутствующая патология у пациентов с сочетанным поражением БЦА и МАНК

Сопутствующая патология	1 группа	2 группа	3 группа	4 группа	Р-величина
ИБС, %	56	79	43	61	0,45
Артериальная гипертензия, %	100	100	100	100	0,56
Инфаркт миокарда, %	14	23	10	12	0,69
Фибрилляция предсердий, %	6	11	4	9	0,11
ТИА, %	70	55	0	0	0,51
Инфаркт головного мозга, %	30	45	0	0	0,28
СД, %	9	21	5	16	0,56
ХБП, %	2	6	3	5	0,12

Примечание: по всем признакам группы статистически не различались,  $p > 0,05$ .

пациентов группы было выполнено ГАГ+БЦА и 15% пациентам КТА БЦА. Из сопутствующей патологии сахарный диабет выявлен у 5% пациентов, ХБП – 3%, ФП – 4%, АГ – 100%, ТИА – 0%, ИМ – 10%, ИГМ – 0%.

В четвертую группу вошло 50 пациентов. Мужчин было 43, женщин 7. Средний возраст 68±3,3 года. Анамнез заболевания составил 6±1,2 года. Курящих было 75%. Средний индекс массы тела (ИМТ) – 29±3. При этом уровень ЛПНП был

равен 3,7±1,1 ммоль/л. СРБ был повышен и составил 9,7±1,3 мг/л. Сопутствующая ИБС отмечена у 53% пациентов группы, со средней фракцией выброса ФВ 55±10,2%, что потребовало выполнения коронароангиографии (КАГ) у 13% пациентов. Среднее значение ЛПИ – 0,46±0,18. Средний процент стеноза заинтересованной ВСА был равен 73±1,3%, с ускорением до 246±37 см/с. Для уточнения характера и степени поражения БЦА 8% пациентов группы было выполнено

Таблица 3 – Виды хирургических вмешательств

Виды операций	Группа 1 (n=37)	Группа 2 (n=42)	Группа 3 (n=51)	Группа 4 (n=50)	Всего (n=180)
1 этап – КЭЭ 2 этап – РОАНК	22	21	17	10	68
1 этап – РОАНК 2 этап – КЭЭ	4	7	16	33	60
Одномоментные (КЭЭ+РОАНК)	11	14	20	7	52

ГАГ+БЦА и 14% пациентам КТА БЦА. Из сопутствующей патологии сахарный диабет выявлен у 16% пациентов, ХБП – 5%, ФП – 9%, АГ – 100%, ТИА – 0%, ИМ – 12%, ИГМ – 0%.

### Хирургическая тактика

В зависимости от результатов обследования в клинических группах были использованы различные виды вмешательств на магистральных артериях. Вид операции, последовательность вмешательств определялись консилиумом врачей на основании оценки клинической картины заболевания, определения наиболее прогностически неблагоприятной сосудистой зоны, изучения данных предоперационного обследования. На основании этих критериев был выбран хирургический подход во всех четырех группах, который включал в себя следующие тактики оперативного лечения: этапные операции (первым этапом КЭЭ, вторым – РОАНК); первым этапом РОАНК, вторым – КЭЭ; одномоментные операции (КЭЭ+РОАНК). Выбор хирургической тактики и этапности вмешательств был основан на оценке риска развития симптомов нарушения мозгового кровообращения и нарушения качества жизни из-за перемежающей хромоты, риска развития КИНК (табл. 3).

Ввиду наличия симптомного гемодинамически значимого стеноза СА в 1 группе у 22 пациентов первым этапом выполнена КЭЭ (двумя методами: эверсионная КЭЭ и классическая КЭЭ). Вторым этапом РОАНК, из них АББП – 32%, АББШ – 18%, ББШ – 15%, БПШ – 13%, бедренно-берцовое шунтирование 22%. 4 пациента отказались от оперативного лечения на сонных артериях, предъявив жалобы на ухудшение качества жизни из-за перемежающей хромоты. Таким пациентам первым этапом выполнена РОАНК, из них АББП – 31%, АББШ – 22%, ББШ – 17%, БПШ – 11%, бедренно-берцовое шунтирование – 19%. Вторым этапом, не позднее 3-х недель, выполне-

на КЭЭ. Учитывая гемодинамически значимое поражение как сонных артерий, так и артерий нижних конечностей, 11 пациентам выполнена одномоментная коррекция обеих артериальных бассейнов (КЭЭ+АББП – 28%, КЭЭ+АББШ – 25%, КЭЭ+ББШ – 17%, КЭЭ+БПШ – 10%, КЭЭ+бедренно-берцовое шунтирование – 20%).

Во 2 группе у 21 пациента, учитывая высокий риск развития инфаркта мозга, первым этапом выполнена КЭЭ. Вторым этапом РОАНК, из них АББП – 29%, АББШ – 25%, ББШ 18%, БПШ 10%, бедренно-берцовое шунтирование – 21%. Учитывая критическую ишемию стопы и высокий риск нарастания необратимой ишемии в ближайшее время, 4 пациентам первым этапом выполнена РОАНК, из них АББП – 28%, АББШ – 26%, ББШ – 16%, БПШ – 9%, бедренно-берцовое шунтирование – 21%. Вторым этапом, не позднее 3-х недель, выполнена КЭЭ (двумя методами: эверсионная КЭЭ и классическая КЭЭ). Учитывая гемодинамически значимое поражение как сонных артерий, так и артерий нижних конечностей, 9 пациентам выполнена одномоментная коррекция обеих артериальных бассейнов (КЭЭ+АББП – 28%, КЭЭ+АББШ – 25%, КЭЭ+ББШ – 17%, КЭЭ+БПШ 10%, КЭЭ+бедренно-берцовое шунтирование – 20%).

В 3 группе у 19 пациентов первым этапом выполнена КЭЭ (эверсионная КЭЭ и классическая КЭЭ). Вторым этапом РОАНК (АББП – 30%, АББШ – 27%, ББШ – 19%, БПШ – 8%, бедренно-берцовое шунтирование – 24%). Ввиду отсутствия очаговой неврологической симптоматики и наличия жалоб на перемежающую хромоту 10 пациентам выполнено первым этапом РОАНК (АББП – 38%, АББШ – 35%, ББШ – 20%, БПШ – 8%, бедренно-берцовое шунтирование – 25%). Вторым этапом – КЭЭ. Учитывая гемодинамически значимое поражение как сонных артерий, так и артерий нижних конечностей, 20 пациентам выполнена одномоментная коррек-

ция обоих артериальных бассейнов (КЭЭ+АББП – 28%, КЭЭ+АББШ – 25%, КЭЭ+ББШ – 17%, КЭЭ+БПШ – 10%, КЭЭ+бедренно-берцовое шунтирование – 20%).

В 4 группе у 10 пациентов первым этапом выполнена КЭЭ. Данное решение принималось с учетом морфологической характеристики атероматозной бляшки и высокого риска развития периперационного инсульта. Вторым этапом РОАНК (АББП – 20%, АББШ – 28%, ББШ – 21%, БПШ – 13%, бедренно-берцовое шунтирование – 18%). Учитывая наличие критической ишемии нижних конечностей, отсутствие неврологической симптоматики морфологических признаков нестабильной бляшки, у 33 пациентов первым этапом выполнили РОАНК (АББП – 26%, АББШ – 27%, ББШ – 19%, БПШ – 12%, бедренно-берцовое шунтирование – 20%). Вторым этапом – КЭЭ. 7 пациентам из данной группы выполнена одномоментная коррекция обоих артериальных бассейнов (КЭЭ+АББП – 28%, КЭЭ+АББШ – 25%, КЭЭ+ББШ – 17%, КЭЭ+БПШ – 10%, КЭЭ+бедренно-берцовое шунтирование – 20%).

Выбор метода КЭЭ основывался на предпочтении оперирующего хирурга. Эверсионная КЭЭ была выполнена у 89% пациентов, классическая КЭЭ – у 11%. В ряде случаев был использован временный шунт для профилактики интраоперационных повреждений головного мозга. Показаниями для использования временного шунта являлись развитие клинической картины ишемии головного мозга во время прекодиционирования (пробного 3-минутного пережатия ВСА) у пациентов, оперированных под регионарной анестезией, и снижение во время прекодиционирования сатурации головного мозга более чем на 25% от исходного значения или общее снижение менее 60% при операциях под эндотрахеальным наркозом. Временный шунт был использован у 1% пациентов. Выбор метода анестезии определялся предпочтением анестезиолога и выбором пациента. Регионарная анестезия применялась у 76%, общая у 26% пациентов.

## Результаты и обсуждения

При оценке исходного статуса пациентов клинических групп были получены следующие результаты. По возрасту и полу не было выявлено достоверных различий между всеми клиническими группами ( $p < 0,05$ ). Длительность заболевания значительно выше во 2 и 4 клинических группах,

группах пациентов с ХАН 3 и ХАН 4. Курящих пациентов также было больше в указанных группах. ИМТ значительно был значительно выше в 1 группе. Повышенный уровень ЛПНП отмечен во всех группах. СРБ был повышен во всех группах и максимально был повышен во 2 и 4 группе, что было связано с манифестацией явлений КИНК. Отмечалось умеренное снижение ФВ во всех клинических группах с минимальным значением во 2 группе. Наиболее значимое снижение ЛПИ отмечено во 2 и 4 группах как маркера наличия КИНК. Стеноз ВСА, как и линейная скорость, имели максимальное значение в группах симптомных пациентов – 1 и 2. ГАГ было выполнено от 2% до 5% пациентов в каждой группе с небольшим значением во 2 группе. Наибольшее количество КТА 35 исследований было выполнено пациентам 2 группы, наименьшее – 4 группы, только 14 исследований. Выполнение КАГ потребовалось 52% 2 группы (наибольшее значение) и 12% пациентов 3 группы (минимальное количество).

Максимальное количество сопутствующей патологии было выявлено у пациентов 2 клинической группы. Так, АГ у 100%, перенесенный ИМ 23%, МА была отмечена у 11%, неврологические нарушения ТИА и ИГМ у 55% и 45% соответственно. СД как сопутствующий фактор, отягощающий течение атеросклероза, выявлен у 21% пациентов, ХБП у 6%. Наиболее компенсированной группой пациентов являлась 3 клиническая группа, где отмечено минимальная из всех групп встречаемость сопутствующей патологии. Так, АГ у 100%, перенесенный ИМ – 23%, МА была отмечена у 11%, неврологических нарушений (ТИА и ИГМ) выявлено не было. СД как сопутствующий фактор, отягощающий течение атеросклероза, выявлен у 5% пациентов, ХБП у 3%.

Послеоперационные результаты оценивались в разрезе неврологических осложнений (ТИА, ИГМ); неблагоприятных клинических исходов с конечностью (ампутация и/или тромбоз, потребовавший повторного вмешательства); общих неблагоприятных исходов (ИМ, смерть). Оценивались непосредственные результаты вмешательства – до 30 суток (табл. 4).

Непосредственные результаты лечения во всех группах были оценены через сутки после операции на основании клинической картины. При необходимости применялись инструментальные и лабораторные методы исследования. Так, всем пациентам с подозрением на ТИА или

Таблица 4 – 30-дневные результаты хирургического лечения 180 пациентов

Осложнения (30 дней)	Группа 1 (n=37)	Группа 2 (n=42)	Группа 3 (n=51)	Группа 4 (n=50)	P-величина
ТИА	1	2	0	1	0,56
ИГМ	0	2	0	0	0,64
Тромбоз	2	3	1	3	0,18
ИМ	0	1	0	1	0,07
Смерть	0	3	0	1	0,88

Примечание: статистической значимости по осложнениям между одномоментными и этапными вмешательствами не получено ( $p>0,05$ ).

ИГМ выполнялось УЗДГ БЦА, пациент осматривался неврологом. При подозрении на ИМ пациенту определялись высоко чувствительные тропонины, выполнялось ЭКГ, осмотр кардиолога. При после операционном тромбозе в зоне реконструкции артерий нижних конечностей выполнялось УЗИ МАНК. Наибольшее число неблагоприятных исходов в раннем послеоперационном периоде отмечено во 2 клинической группе. Причем у пациентов, перенесших одномоментное хирургическое вмешательство (КЭЭ+РОАНК), было зарегистрировано меньше неврологических событий, чем у пациентов этой же группы, которым выполнялись этапные операции. Количество неблагоприятных исходов с конечностью было максимальным во 2 и 4 клинических группах. Наименьшее число осложнений было отмечено в 3 группе. Ранняя послеоперационная летальность отмечена во 2 и 4 группах и составила 1,8% и 1,2% соответственно.

Через месяц было обследовано 176 пациентов (97%). Послеоперационное обследование включало в себя объективное исследование, УЗДГ БЦА, УЗДГ МАНК. В данном сроке наблюдения сохранились тенденции, возникшие в клинических группах сразу после операции.

### Заключение

1. Пациенты с ХАН 3 и ХАН 4 и поражением БЦА имели наиболее длительный анамнез заболевания, выраженную сопутствующую патологию, среди них большее количество курящих.

2. Показатели СРБ и ЛПНП превышали нормальные величины у всех пациентов с мультифокальным поражением и имели максимальное значение у пациентов с агрессивной манифестацией атеросклероза – симптомные пациенты с КИНК.

3. Активная хирургическая тактика в отно-

шении коррекции клинически проявляющих себя артериальных бассейнов является оправданной и позволяет предотвратить неблагоприятные исходы у большинства пациентов.

4. В ближайшем послеоперационном периоде сочетанные операции не приводят к увеличению числа инфарктов и инсультов по сравнению с этапными вмешательствами.

5. Необходим более тонкий инструмент оценки вероятности неблагоприятных исходов у асимптомных пациентов с ССА и поражением МАНК.

6. Наихудшие результаты лечения отмечены в группах пациентов с КИНК, что является обязательным предиктором неблагоприятного исхода лечения.

### Литература

1. Smoking, diabetes, and blood cholesterol differ in their associations with subclinical atherosclerosis: the Multiethnic Study of Atherosclerosis (MESA) / A. R. Sharrett [et al.] // Atherosclerosis. – 2006 Jun. – Vol. 186, N 2. – P. 441–447.
2. High prevalence of peripheral arterial disease and comorbidity in 6880 primary care patients: cross-sectional study / C. Diehm [et al.] // Atherosclerosis. – 2004 Jan. – Vol. 172, N 1. – P. 95–105.
3. A population-based study of peripheral arterial disease prevalence with special focus on critical limb ischemia and sex differences / B. Sigvant [et al.] // J. Vasc. Surg. – 2007 Jun. – Vol. 45, N 6. – P. 1185–1191.
4. Stroke incidence and prevalence in Europe: a review of available data / T. Truelsen [et al.] // Eur. Neurol. – 2006 Jun. – Vol. 13, N 6. – P. 581–598.
5. Государственная программа «Здоровье народа и демографическая безопасность Республики Беларусь на 2016–2020 годы»: постановление Совета Министров Респ. Беларусь, 14 марта 2016 г., № 200 : в ред. постановлений Совмина от 12.01.2017 г., от 09.02.2017 г., от 29.12.2017 г. // Нац. реестр правовых актов Респ. Беларусь. – 2016. – 22 марта. – 5/41840.
6. Хирургическая реваскуляризация нижних конечностей у пациентов с ишемической формой синдрома диабетической стопы / В. А. Янушко [и др.] // Здоровоохранение. –



2013. – № 2. – С. 22–29.

7. ACC/AHA 2005 Guidelines for the Management of Patients With Peripheral Arterial Disease (Lower Extremity, Renal, Mesenteric, and Abdominal Aortic): A Collaborative Report from the American Association for Vascular Surgery/Society for Vascular Surgery, Society for Cardiovascular Angiography and Interventions, Society for Vascular Medicine and Biology, Society of Interventional Radiology, and the ACC/AHA Task Force on Practice Guidelines (Writing Committee to Develop Guidelines for the Management of Patients With Peripheral Arterial Disease) / A. T. Hirsch [et al.] // J. Am. Coll. Cardiol. – 2006 Mar. – Vol. 47, N 6. – P. e1–e192.
8. Klop, R. B. Screening of the internal carotid arteries in patients with peripheral vascular disease by colour-flow duplex scanning / R. B. Klop, B. C. Eikelboom, A. C. Taks // Eur. J. Vasc. Surg. – 1991 Feb. – Vol. 5, N 1. – P. 41–45.
9. 2017 ESC Guidelines on the Diagnosis and Treatment

of Peripheral Arterial Diseases, in collaboration with the European Society for Vascular Surgery (ESVS): Document covering atherosclerotic disease of extracranial carotid and vertebral, mesenteric, renal, upper and lower extremity arteries Endorsed by: the European Stroke Organization (ESO) The Task Force for the Diagnosis and Treatment of Peripheral Arterial Diseases of the European Society of Cardiology (ESC) and of the European Society for Vascular Surgery (ESVS) / V. Aboyans [et al.] // Eur. Heart J. – 2018 Mar. – Vol. 39, N 9. – P. 763–816. Хирургия аорты и ее ветвей : атлас и рук. / В. А. Янушко [и др.]. – Москва : Мед. лит., 2013. – 205 с.

10. Янушко, В. А. Одномоментная хирургическая коррекция при сочетанном поражении сонных и коронарных артерий / В. А. Янушко // Изв. Нац. акад. наук Беларуси. Сер. мед. наук. – 2018. Т. 15, № 3. – С. 354–362.

Поступила 29.12.2020 г.

Принята в печать 15.02.2021 г.

## References

1. Sharrett AR, Ding J, Criqui MH, Saad MF, Liu K, Polak JF, et al. Smoking, diabetes, and blood cholesterol differ in their associations with subclinical atherosclerosis: the Multiethnic Study of Atherosclerosis (MESA). Atherosclerosis. 2006 Jun;186(2):441-7. doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2005.08.010
2. Diehm C, Schuster A, Allenberg JR, Darius H, Haberk R, Lange S, et al. High prevalence of peripheral arterial disease and co-morbidity in 6880 primary care patients: cross-sectional study. Atherosclerosis. 2004 Jan;172(1):95-105. doi: 10.1016/s0021-9150(03)00204-1
3. Sigvant B, Wiberg-Hedman K, Bergqvist D, Rolandsson O, Andersson B, Persson E, et al. A population-based study of peripheral arterial disease prevalence with special focus on critical limb ischemia and sex differences / B. Sigvant [et al.] // J. Vasc. Surg. – 2007 Jun. – Vol. 45, N 6. – P. 1185–1191.
4. Truelsen T, Piechowski-Jozwiak T, Bonita R, Mathersa C, Bogousslavsky J, Boysen G. Stroke incidence and prevalence in Europe: a review of available data. Eur J Neurol. 2006 Jun;13(6):581-98. doi: 10.1111/j.1468-1331.2006.01138.x
5. State program "People's health and demographic security of the Republic of Belarus for 2016-2020": postanovlenie Soveta Ministrov Resp Belarus', 14 marta 2016 g, № 200: v red postanovlenii Sovmina ot 12.01.2017 g, ot 09.02.2017 g, ot 29.12.2017 g. Nats Reestr Pravovyykh Aktov Resp Belarus'. 2016;(22 marta):5/41840. (In Russ.)
6. Ianushko VA, Klimchuk IP, Popel GA, Ladygin PA, Shestak NG. Surgical revascularization of the lower extremities in patients with ischemic diabetic foot syndrome. Zdravookhranenie. 2013;(2):22-9. (In Russ.)
7. Hirsch AT, Haskal ZJ, Hertzner NR, Bakal CW, Creager

MA, Halperin JL, et al. ACC/AHA 2005 Guidelines for the Management of Patients With Peripheral Arterial Disease (Lower Extremity, Renal, Mesenteric, and Abdominal Aortic): A Collaborative Report from the American Association for Vascular Surgery/Society for Vascular Surgery, Society for Cardiovascular Angiography and Interventions, Society for Vascular Medicine and Biology, Society of Interventional Radiology, and the ACC/AHA Task Force on Practice Guidelines (Writing Committee to Develop Guidelines for the Management of Patients With Peripheral Arterial Disease). J Am Coll Cardiol. 2006 Mar;47(6):e1-92.

8. Klop RB, Eikelboom BC, Taks AC. Screening of the internal carotid arteries in patients with peripheral vascular disease by colour-flow duplex scanning. Eur J Vasc Surg. 1991 Feb;5(1):41-5. doi: 10.1016/s0950-821x(05)80925-9.
9. Aboyans V, Ricco J-B, Bartelink M-LEL, Björck M, Brodmann M, Cohnert T, et al. 2017 ESC Guidelines on the Diagnosis and Treatment of Peripheral Arterial Diseases, in collaboration with the European Society for Vascular Surgery (ESVS): Document covering atherosclerotic disease of extracranial carotid and vertebral, mesenteric, renal, upper and lower extremity arteries Endorsed by: the European Stroke Organization (ESO) The Task Force for the Diagnosis and Treatment of Peripheral Arterial Diseases of the European Society of Cardiology (ESC) and of the European Society for Vascular Surgery (ESVS). Eur Heart J. 2018 Mar;39(9):763-816. doi: 10.1093/eurheartj/ehx095
10. Ianushko VA, Ioskevich NN, Lozhko PM, Turliuk DV, Ianushko AV. Surgery of the aorta and its branches: atlas i ruk. Moscow, RF: Med lit; 2013. 205 p. (In Russ.)
11. Ianushko VA. One-stage surgical correction for combined lesions of the carotid and coronary arteries. Izv Nats Akad Nauk Belarusi Ser Med Nauk. 2018;15(3):354-62. (In Russ.)

Submitted 29.12.2020

Accepted 15.02.2021

**Сведения об авторах:**

Янушко В.А. – д.м.н., профессор, главный научный сотрудник лаборатории хирургии сосудов, РНПЦ «Кардиология»;

Климчук И.П. – к.м.н., заведующий отделением сосудистой хирургии, 4-я городская клиническая больница им. Н.Е. Савченко;

Кордзахия Г.Э. – врач-ангиохirurg отделения сосудистой хирургии, 4-я городская клиническая больница им. Н.Е. Савченко;

Попель Г.А. – к.м.н., заведующий лабораторией хирургии сосудов, РНПЦ «Кардиология».

**Information about authors:**

*Yanushko V.A. – Doctor of Medical Sciences, professor, chief researcher of the Laboratory of Vascular Surgery, RSPC «Cardiology»;*

*Klimchuk I.P. – Candidate of Medical Sciences, vascular surgeon, head of the department of vascular surgery, the 4th City Clinical Hospital named after N.E. Savchenko;*

*Kordzakhia G.E. – vascular surgeon of the department of vascular surgery, the 4th City Clinical Hospital named after N.E. Savchenko;*

*Popel G. – Candidate of Medical Sciences, head of the Laboratory of Vascular Surgery, RSPC «Cardiology».*

**Адрес для корреспонденции:** Республика Беларусь, 220089, г. Минск, ул. Р. Люксембург, 110, 4-я городская клиническая больница им. Н.Е. Савченко. E-mail: kordza@inbox.ru – Кордзахия Георгий Элгуджевич.

**Correspondence address:** Republic of Belarus, 220089, Minsk, 110B R. Luxemburg str., the 4th City Clinical Hospital named after N.E. Savchenko. E-mail: kordza@inbox.ru – Giorgi E. Kordzakhia. E. Kordzakhia.

## СЕРОСОДЕРЖАЩИЕ АМИНОКИСЛОТЫ И ИХ ПРОИЗВОДНЫЕ МЕТАБОЛИТЫ У ЖЕНЩИН С КЛИМАКТЕРИЧЕСКИМ СИНДРОМОМ В ПОСТМЕНОПАУЗЕ

КОЛБАСОВА Е.А.<sup>1</sup>, КИСЕЛЕВА Н.И.<sup>1</sup>, НАУМОВ А.В.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет, г. Витебск, Республика Беларусь

<sup>2</sup>Гродненский государственный медицинский университет, г. Гродно, Республика Беларусь

Вестник ВГМУ. – 2021. – Том 20, №1. – С. 72-80.

## SULFUR-CONTAINING AMINO ACIDS AND THEIR METABOLITE DERIVATIVES IN WOMEN WITH CLIMACTERIC SYNDROME IN POST-MENOPAUSE

KOLBASOVA E.A.<sup>1</sup>, KISELEVA N.I.<sup>1</sup>, NAUMOV A.V.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University, Vitebsk, Republic of Belarus

<sup>2</sup>Grodno State Medical University, Grodno, Republic of Belarus

Vestnik VGMU. 2021;20(1):72-80.

### Резюме.

Цель исследования – изучить показатели концентраций серосодержащих аминокислот и их метаболитов в сыворотке крови у женщин с хирургической и естественной менопаузой и установить корреляционные взаимосвязи со степенью тяжести климактерического синдрома, уровнем гонадотропных и половых стероидных гормонов.

Материал и методы. Нами обследованы 192 женщины, из них 93 с хирургической менопаузой (I группа), 68 с естественной менопаузой (II группа), 31 в позднем репродуктивном и перименопаузальном возрастах (контрольная группа). Пациенткам проводилось исследование содержания гомоцистеина (Hcy), цистеина (Cys), глутатиона (GSH) и цистеинилглицина (CysGly) в сыворотке крови методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ).

Результаты. Установлено, что у женщин с хирургической менопаузой медианное значение показателей гомоцистеина, цистеина, цистеинилглицина в 1,5 раза, на 17,0% и 23,2% соответственно выше, чем у женщин с естественной менопаузой, и в 2,2, 2,0 и 1,8 раза соответственно выше, чем у пациенток контрольной группы ( $p < 0,05$ ). Медиана концентрации глутатиона в крови у пациенток с хирургической менопаузой была снижена (на 26,7% ( $p < 0,01$ ), у пациенток с естественной менопаузой – на 16,2% ниже ( $p < 0,05$ ), чем у контрольной группы.

Нарастание степени тяжести климактерического синдрома (КС) по шкале Куппермана-Уваровой соответствовало увеличению Hcy, Cys, CysGly и уменьшению GSH в сыворотке крови обследованных женщин ( $p < 0,01$ ).

Заключение. Установленные прямые и обратные статистически значимые корреляционные связи между показателями концентрации серосодержащих аминокислот (их производных) и гонадотропными, стероидными половыми гормонами и клиническими проявлениями климактерического синдрома свидетельствует об участии изученных показателей в развитии патологии менопаузального периода.

**Ключевые слова:** овариэктомия, хирургическая менопауза, естественная менопауза, климактерический синдром, гормоны, гомоцистеин (Hcy), цистеин (Cys), цистеинилглицин (CysGly), глутатион (GSH).

### Abstract.

Objectives. To study the indicators of the concentrations of sulfur-containing amino acids and their metabolites in the blood serum of women with surgical and natural menopause and to establish correlations with the severity of menopause syndrome, the level of gonadotropic and sex steroid hormones.

Material and methods. We examined 192 women, 93 of them with surgical menopause (group I), 68 with natural menopause (group II), 31 in late reproductive and perimenopausal ages (control group). The patients underwent a study of the content

of homocysteine (Hcy), cysteine (Cys), glutathione (GSH) and cysteinylglycine (CysGly) in the blood serum by means of high performance liquid chromatography (HPLC).

Results. It has been found that in women with surgical menopause, the median value of homocysteine, cysteine, cysteinylglycine is 1.5 times, by 17.0% and 23.2%, respectively, higher than in women with natural menopause and 2.2, 2.0 and 1.8 times, respectively, higher than in the control group patients ( $p < 0.05$ ). The median concentration of glutathione in the blood in patients with surgical menopause was reduced (by 26.7% ( $p < 0.01$ )), in patients with natural menopause – by 16.2% lower ( $p < 0.05$ ) than in the control group.

The increase in the severity of the climacteric syndrome (CS) according to the Kupperman-Uvarova scale corresponded to an increase in Hcy, Cys, CysGly and a decrease in GSH in the blood serum of the examined women ( $p < 0.01$ ).

Conclusions. The established direct and inverse statistically significant correlations between indicators of the concentration of sulfur-containing amino acids (their derivatives) and gonadotropic, steroid sex hormones and clinical manifestations of climacteric syndrome testify to the participation of the studied indicators in the development of the menopausal period pathology.

Key words: oophorectomy, surgical menopause, natural menopause, climacteric syndrome, hormones, homocysteine (Hcy), cysteine (Cys), cysteinylglycine (CysGly), glutathione (GSH).

Многочисленными исследованиями показано, что нарушения аминокислотного обмена вызывают у людей различные патологические состояния: увеличение риска кардиоваскулярных заболеваний, включая артериальную гипертензию, развитие депрессии, усиление отрицательного действия алкоголя, дерматиты и длительно незаживающие повреждения кожи, расстройства детоксикации, миопатию, анемию, остеопороз и другие [1-3].

Вопрос о роли Hcy, Cys, GSH и CysGly в развитии различных заболеваний в настоящее время остается спорным и противоречивым. В литературе представлены данные о содержании серосодержащих аминокислот у женщин при физиологическом и осложненном течении беременности и родов, у пациенток с доброкачественными заболеваниями молочных желез, при эндокринном бесплодии у женщин с метаболическим синдромом [1, 4]. Достаточно интенсивно изучен вопрос о влиянии климактерического периода и роли гормон-замещающей терапии на уровень гомоцистеина как одного из предполагаемых патогенных факторов в этом процессе [5].

Хорошо известно, что снижение уровня эстрогенов в период климакса является причиной повышенного риска развития сердечно-сосудистой патологии. У животных с удалёнными яичниками наблюдается высокий уровень Hcy, глюкозы, инсулина, малонового диальдегида и снижение антиоксидантной защиты: GSH, глутатион пероксидазы, каталазы, супероксиддисмутазы [6].

Согласно данным литературы, серосодер-

жащие аминокислоты и их производные (цистеин Cys, цистеиновая кислота (CA), цистатионин (Ctn), таурин (Tau), метионин (Met), гомоцистеин (Hcy), глутатион (GSH) обладают широким спектром влияния на биологические процессы в организме. С наличием SH-группы связано осуществление таких процессов, как дыхание и окислительное фосфорилирование, работа большинства ферментов, а также регуляция проницаемости мембран, синтез GSH, эндогенного сероводорода ( $H_2S$ ), креатинина и других биологически активных веществ [1, 7].

Условно заменяемая аминокислота Cys является важным компонентом активного центра многих ферментов, играет важную роль в работе ферментов-антиоксидантов, служит лимитирующим фактором синтеза основного антиоксиданта в клетках – глутатиона ( $\gamma$ -глутамил-цистеинил-глицина), является предшественником таурина и эндогенного сероводорода [8].

Гомоцистеин – серосодержащая аминокислота, получается из метионина (Met) и ввиду своей цитотоксичности быстро метаболизируется благодаря двум метаболическим процессам – реметиливанию и транссульфурированию. При реметиливании Hcy превращается обратно в Met, при участии ферментов, использующих витамины  $B_2$ ,  $B_9$ ,  $B_{12}$ , U и производное холина – бетаин [9]. Благодаря транссульфурированию с участием двух  $B_6$ - и  $Zn^{2+}$ -зависимых ферментов – цистатионин- $\beta$ -ситазы (CBS) и цистатионин- $\gamma$ -лиазы (CSE) – превращается в цистатионин, Cys,  $\alpha$ -кетобутират, эндогенный сероводород, пируват, гомосерин и аммиак [10].

Известно, что гипергомоцистеинемия (ННсу) – более информативный показатель сердечно-сосудистой патологии, чем холестеролия. Нсу является выраженным маркером воспалительных и аутоиммунных процессов, патологий беременности, остеопороза, атеросклероза, развития сердечной недостаточности и аритмии. Нсу повышает выработку свободных радикалов кислорода, повреждает стенки сосудов, усиливает тромбообразование, нарушает функциональную активность эндотелиальных клеток, участвует в развитии нейродегенеративных и психических заболеваний, подавляет трансметилирование и меняет структуру эпигенома [1, 6]. Многие патологические процессы при ННсу не связаны непосредственно с Нсу, а являются следствием его регуляторной активности. Например, установлено, что S-аденозилгомоцистеин (SAH, продукт реакций трансметилирования) накапливается пропорционально Нсу и является ингибитором трансметилаз, т.е. вмешивается в формирование эпигенома (экспрессию генов) [1]. Нсу запускает воспалительный ответ в макрофагах путём ингибирования выработки цистатионин-γ-лиазой эндогенного сероводорода, что связано с гиперметилированием промотора гена CSE. Нсу подавляет активность и экспрессию также второго фермента транссульфурирования – CBS, что увеличивает концентрацию Cys, Нсу и снижает уровень антиоксидантов – глутатиона и  $H_2S$  [1, 10].

Глутатион – один из самых концентрированных восстановителей и низкомолекулярных антиоксидантов в клетке: неферментативно нейтрализует свободные радикалы кислорода и азота; восстанавливает α-токоферол (витамин Е); как электронный донор глутатион пероксидазы (GPx) участвует в обезвреживании перекисей и в том числе пероксинитрита (ONOO-); с помощью гамма глутамил трансферазы (GGT) осуществляет транспорт аминокислот в клетку, при этом вырабатывается CysGly; наравне с Cys осуществляет глутатионилирование белков и ксенобиотиков; необходим для синтеза лейкотриенов и простагландинов; участвует в образовании дезоксирибозы. Установлено, что сокращение синтеза этого трипептида на 30% достаточно для прекращения нормального функционирования и гибели клеток [1, 11].

Исходя из вышеизложенного, изучение изменений группы серосодержащих аминокислот и их производных при различных физиологических и патологических состояниях представляет боль-

шой теоретический и практический интерес, так как в доступной литературе мы не нашли данных об исследовании серосодержащих аминокислот, кроме Нсу, у женщин с дефицитом эстрагенов.

Цель исследования – изучить показатели концентраций серосодержащих аминокислот и их метаболитов в сыворотке крови у женщин с хирургической и естественной менопаузой и установить корреляционные связи со степенью тяжести климактерического синдрома, уровнем гонадотропных и половых стероидных гормонов.

## Материал и методы

Исследования проводились на базе кафедры акушерства и гинекологии учреждения образования «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет», НИЛ УО «Гродненский государственный медицинский университет».

Концентрацию серосодержащих аминокислот и их производных определяли у 192 женщин перименопаузального возраста. В I группу включили 93 женщины с хирургической менопаузой, прооперированных по поводу доброкачественных заболеваний матки и придатков. Гистерэктомия с тотальной овариоэктомией была проведена в 90,3% случаев, двусторонняя овариоэктомия – в 9,7% случаев. Средний возраст женщин группы составил  $50,8 \pm 3,3$  года, длительность менопаузы –  $1,0 (0,8; 1,7)$  год.

Во II группу вошли 68 женщин с естественной менопаузой длительностью  $1,3 (1,0; 3,0)$  года. Средний возраст пациенток II группы –  $50,5 \pm 3,1$  года.

Контрольную группу составила 31 женщина позднего репродуктивного и перименопаузального возрастов с сохраненной менструальной функцией и без менопаузальных симптомов. Средний возраст женщин данной группы составил  $48,8 \pm 3,0$  года.

Содержание гомоцистеина (Нсу), цистеина (Cys), глутатиона (GSH) и цистеинилглицина (CysGly) определяли в сыворотке крови методом обращенно-фазной ВЭЖХ с предколоночной дериватизацией и изократическим элюированием с помощью модифицированной методики. Использовали HPLC Agilent 1200. Разделение проводили на колонках Zorbax Eclipse Plus C18,  $2,1 \times 150$  мм,  $3,5$  мкм. Использовались реактивы квалификации не ниже хч, стандарты определяемых соединений Aldrich, трижды дистиллированная вода,

растворители квалификации «для градиентной ВЭЖХ». При пробоподготовке использовалась центрифуга Biofuge Primo R+ с охлаждаемым ротором. Оценка полученных значений производилась программой Agilent ChemStation B.04.02 путем сравнения результатов анализа исследуемых биологических объектов со стандартной калибровочной кривой искусственной смеси аминокислот Aldrich (США) [12].

Гормональный профиль изучали, определяя содержание в сыворотке крови фолликуло-стимулирующего гормона (ФСГ), эстрадиола, прогестерона, при помощи стандартных наборов реактивов «Хозрасчетного опытного производства Института биоорганической химии Национальной академии наук Беларуси», автоматического гамма-счетчика «Гамма-12».

Степень тяжести климактерического синдрома (КС) оценивали с помощью модифицированного менопаузального индекса (ММИ) Куппермана-Уваровой. Пациентки I и II групп были разделены на подгруппы в зависимости от степени тяжести КС: 1-я и 4-я подгруппы – КС легкой степени тяжести (суммарный ММИ 27,0 (24,0; 30,0) баллов и 23,5 (20,0; 30,0) балла соответственно); 2-я и 5-я подгруппы – КС средней степени тяжести (суммарный ММИ 39,0 (36,0; 44,0) баллов и 38,5 (36,0; 43,0) балла соответственно); 3-я и 6-я подгруппы – КС тяжелой степени (суммарный ММИ 59,0 (59,0; 66,0) баллов и 59,0 (59,0; 60,0) баллов соответственно) [13].

Статистическая обработка данных проводилась с помощью пакета прикладных программ «STATISTICA 10.0», Microsoft Excel с использованием модулей Basic Statistic/Tables, Nonparametrics. Характер распределения количественных данных осуществляли с помощью критерия Шапиро-Уилка. В случае соответствия нормальному распределению результаты представляли как  $M \pm u$ , где  $M$  – среднее значение,  $u$  – стандартное отклонение. При сравнении двух групп по количественному признаку с нормальным распределением использовали  $t$ -критерий Стьюдента для зависимых и независимых выборок.

Для сравнения количественного признака в трех и более независимых группах пользовались методом Крускала-Уоллиса. В случае выявления различий проводили попарное сравнение групп с помощью теста Манна-Уитни, применяя поправку Бонферрони. В случае распределения, отличного от нормального, результаты исследования представляли в виде  $Me (25\%; 75\%)$ , где  $Me$  – медиана,

(25%; 75%) – верхняя и нижняя квартили. Для анализа взаимосвязи признаков применяли метод непараметрического корреляционного анализа (ранговая корреляция по Спирмену –  $R$ ). Сравнение групп по качественным признакам проводилось с использованием классического критерия Хи-квадрат Пирсона или двустороннего точного критерия Фишера. По  $T$ -критерию Фишера проверяли гипотезу о равенстве дисперсий. Во всех процедурах статистического анализа критический уровень значимости  $p$  принимали равным 0,05.

## Результаты и обсуждение

Изменения концентрации Hcy, Cys, GSH и CysGly в сыворотке крови представлены в таблице 1. У женщин с хирургической менопаузой медиана концентрации Hcy составила 9,39 мкмоль/л, что в 1,5 раза ( $p < 0,001$ ) выше, чем у пациенток с естественной менопаузой и в 2,2 раза ( $p < 0,001$ ) выше, чем у женщин позднего репродуктивного и перименопаузального возрастов.

Медианное значение концентрации Hcy у женщин с естественной менопаузой составило 6,13 мкмоль/л, что в 1,4 раза ( $p < 0,01$ ) выше, чем у женщин контрольной группы.

У женщин с хирургической менопаузой медианное значение Cys составило 150,12 (125, 11; 203,62) мкмоль/л и на 17,0% статистически значимо превышало аналогичный показатель у женщин с естественной менопаузой (124,55 (71,89; 165,3) мкмоль/л,  $p < 0,01$ ) и в 2 раза – показатель у женщин позднего репродуктивного и перименопаузального возрастов (73,88 (63,64; 103,39) мкмоль/л,  $p < 0,01$ ). У женщин с естественным угасанием функции также имело место повышение уровня Cys на 40,7% по сравнению с группой контроля  $p < 0,01$ .

Эстрогены, как известно, имеют выраженные антиоксидантные свойства, и снижение их количества сопровождается ростом свободных радикалов кислорода и окислительным стрессом, для которого характерно развитие HHcy [1]. В этой ситуации Hcy служит а) субстратом для синтеза антиоксиданта – эндогенного серододорода, б) непосредственным предшественником Cys (лимитирующим фактором синтеза глутатиона) и в) наряду с Cys или глутатионом служит фактором защиты SH-групп белков путём гомоцистеинилирования (аналогично присоединению GSH – S-глутатионилированию) [10].

Одной из основных функций GSH явля-

Таблица 1 – Содержание серосодержащих аминокислот и их производных в сыворотке крови у обследованных женщин (Ме (25%; 75%))

Показатели, мкмоль/л	Группы обследованных женщин		
	I группа (n=93)	II группа (n=68)	Контрольная группа (n=31)
Гомоцистеин (Hcy)	9,39 (7, 47; 12,14)*.**	6,13 (4,8; 8,67) *	4,35 (3,47; 5,76)
Цистеин (Cys)	150,12 (125, 11; 203,62)*.**	124,55 (71,89; 165,3)*	73,88 (63,64; 103,39)
Цистеинилглицин (CysGly)	82,34 (65, 91; 99,61)*.**	63,26 (42,0; 92,28)*	44,58 (34,83; 54,30)
Глутатион (GSH)	3,99 (2, 76; 5,26)*.**	3,91 (2,93; 5,55)*	4,75 (3,60; 6,25)

Примечание: P – вероятность справедливости нулевой гипотезы: \* – при сравнении с контрольной группой (U-критерий Манна-Уитни); \*\* – при сравнении со II группой (U-критерий Манна-Уитни).

ется перенос аминокислот в клетку с помощью  $\gamma$ -глутамилтрансферазы (GGT), в результате вне клетки остаётся дипептид – цистеинилглицин (CysGly), который под действием дипептидаз может расщепляться до аминокислот [1]. Показано, что сывороточная GGT является фактором риска развития сердечно-сосудистых заболеваний [14, 15], что может быть связано с увеличением концентрации продукта реакции – цистеинил-глицина (CysGly). CysGly, в силу наличия SH группы, участвует в превращении  $Fe^{3+}$  в  $Fe^{2+}$  и таким образом провоцирует формирование оксидантного стресса. Следствием этого является, например, рост окисленной формы липопротеидов низкой плотности и активация воспалительных процессов, т.е. атерогенез [14, 15].

У женщин I группы уровень CysGly был на 23,2% ( $p<0,001$  выше результата II группы и в 1,8 раза выше показателей группы контроля ( $p<0,001$ ). У женщин контрольной группы уровень CysGly составил 44,58 (34,83; 54,30) мкмоль/л, что на 29,5% ниже показателя II группы.

Полученный результат указывает, что наряду с определением активности GGT можно измерять уровень продукта его реакции – CysGly и использовать этот показатель как новый маркер уровня оксидантного стресса в организме. В данном случае рост концентрации CysGly у женщин при недостатке/отсутствии эстрогенов пропорционален изменению Hcy, который, как было показано ранее, является критерием роста провоспалительных и перекисных процессов при удалении яичников [16].

Важной серосодержащей аминокислотой является глутатион (GSH), являющийся мощным

антиоксидантом. Как видно из данных, представленных в таблице 1, у женщин с хирургической и естественной менопаузой по сравнению с женщинами позднего репродуктивного и перименопаузального возрастов имеет место статистически значимое снижение содержания глутатиона в сыворотке крови. Так, у пациенток с естественной менопаузой медиана концентрации глутатиона была на 16,2% ниже, чем в контрольной группе ( $p<0,05$ ), а у пациенток с хирургической менопаузой – на 26,7% ниже ( $p<0,001$ ). Такие изменения вполне соответствуют ситуации с повышенной активностью  $\gamma$ -глутамилтрансферазы, которая обычно наблюдается при различных неблагоприятных условиях, сопровождающихся оксидантным стрессом [14, 15].

Нами изучено содержание гомоцистеина, цистеина, цистеинилглицина, глутатиона в сыворотке крови у пациенток с хирургической и естественной менопаузой в зависимости от степени тяжести КС по шкале Куппермана-Уваровой (табл. 2).

Данные, представленные в таблице 2, свидетельствуют о том, что у пациенток с хирургической и естественной менопаузой при нарастании степени тяжести КС увеличивались уровни гомоцистеина, цистеина и уменьшалось содержание глутатиона.

У женщин 3-ей подгруппы, имеющих КС тяжелой степени, медианное значение количества гомоцистеина и цистеина было в 1,5 и 1,1 раза соответственно выше, чем у женщин 2-ой подгруппы с КС средней степени тяжести, в 1,5 и 1,2 раза выше соответственно, чем у женщин 1-ой подгруппы с КС легкой степени тяжести, в 3,1 и в 2,2 раза соответственно выше ( $p<0,01$ ),

чем у женщин контрольной группы.

Концентрация производного глутатиона – Cys-Gly – у женщин изменялась в зависимости от тяжести климактерического синдрома. У пациенток 2-ой подгруппы медиана содержания Cys-Gly в сыворотке крови была в 1,9 раза выше, чем в группе контроля ( $p<0,01$ ) и на 4,3% выше, чем у женщин 1-ой подгруппы ( $p<0,01$ ). Аналогичная ситуация отмечалась и у пациенток с естественной менопаузой 5-ой подгруппы – показатель Cys-Gly был выше в 1,9 и 1,7 раза по сравнению с группой контроля ( $p<0,01$ ) и пациентками с легким течением климактерического синдрома (4-я подгруппа), ( $p<0,01$ ). При этом статистически значимых различий в содержании Cys-Gly между пациентками 2-ой и 3-ой, 5-й и 6-й подгрупп не выявлено ( $p>0,05$ ).

Низкие значения показателя содержания глутатиона отмечались в 3-й, 5-й и 6-й подгруппах

женщин: 3,54 (2,76; 6,16) мкмоль/л, 3,1 (2,82; 5,2) мкмоль/л и 2,65 (2,0; 2,93) мкмоль/л соответственно. Медианное значение концентрации глутатиона в сыворотке крови у женщин 3-й подгруппы было в 2,2 раза ниже по сравнению с женщинами контрольной группы ( $p<0,01$ ), на 14,3% ниже, чем у женщин 2-ой подгруппы ( $p<0,01$ ) и на 14,9% ниже, чем у женщин 1-ой подгруппы ( $p<0,01$ ).

У пациенток 6-й подгруппы медианное значение глутатиона было 1,8 раза ( $p<0,01$ ) ниже данного показателя у женщин контрольной группы, на 14,5% ( $p<0,001$ ) ниже аналогичного показателя у пациенток 4-ой подгруппы и на 34,4% ниже показателя у пациенток 5-ой подгруппы ( $p<0,001$ ).

Проведенный нами корреляционный анализ между серосодержащими аминокислотами и результатами ММИ показал слабую прямую зависимость между концентрацией Hcy в сыворотке крови и степенью выраженности нейровегета-

Таблица 2 – Содержание серосодержащих аминокислот и их производных в сыворотке крови у обследованных женщин в зависимости от степени тяжести климактерического синдрома по шкале Куппермана-Уваровой (Me (25%; 75%))

Обследованные пациентки		Гомоцистеин (Hcy), мкмоль/л	Цистеин (Cys), мкмоль/л	Цистеинилглицин (CysGly), мкмоль/л	Глутатион (GSH), мкмоль/л
I группа (n=93)	1 подгруппа (n=30)	9,01 (6,98; 12,16)*	143,1 (118,52; 203,07)*	80,49 (64,4; 91,38)*	4,16 (2,57; 5,26)*
	2 подгруппа (n=54)	9,18 (7,54; 10,18)***	152,84 (128,83; 176,85)***	84,11 (70,4; 104,08)***	4,13 (3,24; 5,25)***
	3 подгруппа (n=9)	13,61 (10,2; 16,87)***	166,2 (133,15; 351,5)***	74,74 (52,36; 114,4)*	3,54 (2,76; 6,16)***
II группа (n=68)	4 подгруппа (n=37)	5,79 (4,6; 7,24)*	112,51 (67,08; 146,46)*	48,52 (38,12; 74,3)*	4,04 (3,23; 5,71)*
	5 подгруппа (n=28)	7,31 (5,17; 9,49)***	128,95 (92,52; 197,7)*	82,66 (46,15; 95,86)*	3,1 (2,82; 5,2)*
	6 подгруппа (n=3)	5,33 (3,82; 17,9)*	124,55 (81,1; 254,3)*	68,57 (49,37; 102,85)*	2,65 (2,0; 2,93)***
Контрольная группа (n=31)	Без проявлений КС	4,35 (3,47; 5,76)	73,88 (63,64; 103,39)	44,58 (34,83; 54,30)	4,75 (3,60; 6,25)

Примечание: \* – статистически значимые ( $p<0,01$ ) различия при сравнении уровня серосодержащих аминокислот и их метаболитов у женщин с КС и женщин контрольной группы, \*\* – при сравнении показателей у женщин с КС легкой и средней тяжести ( $p<0,05$ ), \*\*\* – при сравнении уровня серосодержащих аминокислот и их метаболитов у женщин с КС средней и тяжелой степени ( $p<0,05$ ).



тивных ( $R=0,24$ ,  $p<0,05$ ), психоэмоциональных ( $R=0,25$ ,  $p<0,05$ ) проявлений КС, метаболических нарушений ( $R=0,28$ ,  $p<0,05$ ), общим значением ММИ ( $R=0,22$ ,  $p<0,05$ ).

Была выявлена слабая обратная зависимость между GSH и нейровегетативными нарушениями ( $R=-0,27$ ,  $p<0,05$ ) и общим значением ММИ ( $R=-0,24$ ,  $p<0,05$ ).

Следовательно, у женщин с хирургической и естественной менопаузой при нарастании степени тяжести клинических проявлений КС отмечаются дефицит GSH и повышение уровней Hcy, Cys, CysGly, что свидетельствует о снижении факторов антиоксидантной защиты и росте оксидантного стресса по мере увеличения тяжести данной патологии. Особенно это касается цистеинил-глицина, так как из литературы известно, что уровень GGT в сыворотке крови имеет пропорциональную зависимость с уровнем С-реактивного белка [15].

Нами проведен корреляционный анализ между серосодержащими аминокислотами и их метаболитами (табл. 3).

Установлено, что уровни Hcy и Cys патогенетически взаимосвязаны с показателями GSH и CysGly, о чем свидетельствуют статистически значимые корреляционные связи с данными показателями ( $p<0,01$ ).

Нами изучена взаимосвязь между серосодержащими аминокислотами и уровнем половых гормонов. Выявленные статистически значимые корреляционные связи представлены в таблице 4.

Установлено, что уровни Hcy, Cys и CysGly находятся в статистически значимой слабой прямой корреляционной связи с гонадотропинами ( $p<0,01$ ) и слабой прямой корреляционной связи с эстрадиолом и прогестероном ( $p<0,01$ ).

Меньшая степень корреляции была выявлена между глутатионом (GSH) и фолликулостимулирующим гормоном ( $R=0,21$ ,  $p=0,02$ ).

мулирующим гормоном ( $R=0,21$ ,  $p=0,02$ ).

Необходимо отметить, что содержание Hcy в сыворотке крови зависит от типа менопаузы, уровня эстрадиола. Подтверждением этого является наличие статистически значимой обратной корреляционной связи между уровнем Hcy и типом менопаузы ( $R=-0,42$ ,  $p<0,01$ ).

Установлена статистически значимая обратная корреляционная связь между Hcy и эстрадиолом ( $R=-0,31$ ,  $p<0,001$ ), что подтверждает данные, полученные в экспериментах на животных, с результатами нашей работы.

## Заключение

1. У женщин с хирургической и естественной менопаузой по сравнению с женщинами пременопаузального возраста отмечается статистически значимое увеличение концентрации гомоцистеина, цистеина, цистеинилглицина и уменьшение концентрации глутатиона, свидетельствующее о развитии процессов свободнорадикального окисления и оксидантного стресса в условиях дефицита эстрогенов.

2. Хирургическое выключение функции яичников сопровождается достоверно большей степенью изменений серосодержащих аминокислот и их метаболитов по сравнению с естественным угасанием функции яичников.

3. Установленные прямые и обратные статистически значимые корреляционные связи между показателями концентрации серосодержащих аминокислот (их производных) и гонадотропинами, стероидными половыми гормонами и клиническими проявлениями климактерического синдрома свидетельствуют об участии изученных показателей в развитии патологии менопаузального периода.

Таблица 3 – Коэффициенты корреляции Спирмена между серосодержащими аминокислотами и их метаболитами

Показатели серосодержащих аминокислот у обследованных женщин	Коэффициенты корреляции Спирмена между серосодержащими аминокислотами и их метаболитами			
	Гомоцистеин (Hcy), мкмоль/л	Цистеин (Cys), мкмоль/л	Цистеинилглицин (CysGly), мкмоль/л	Глутатион (GSH), мкмоль/л
Гомоцистеин (Hcy)	–	0,57 $p<0,01$	0,60 $p<0,01$	-0,15 $p<0,01$
Цистеин (Cys)	0,57 $p<0,01$	–	0,73 $p<0,01$	-0,23 $p<0,01$

Примечание: Р – вероятность справедливости нулевой гипотезы.

Таблица 4 – Коэффициенты корреляции Спирмена между показателями серосодержащих аминокислот и уровнем гонадотропных и половых стероидных гормонов у обследованных пациенток

Показатели гонадотропных и половых стероидных гормонов у пациенток с хирургической и естественной менопаузой	Коэффициенты корреляции Спирмена между серосодержащими аминокислотами и содержанием гонадотропных и половых стероидных гормонов		
	Гомоцистеин (Hcy), мкмоль/л	Цистеин (Cys), мкмоль/л	Цистеинилглицин (CysGly), мкмоль/л
Фолликулостимулирующий гормон (ФСГ)	0,28 p<0,01	0,26 p<0,01	0,24 p<0,01
Эстрадиол	-0,31 p<0,01	-0,27 p<0,01	-0,26 p<0,01
Прогестерон	-0,24 p<0,01	-0,26 p<0,01	-0,26 p<0,01

Примечание: Р – вероятность справедливости нулевой гипотезы.

4. Впервые показано, что для оценки уровня оксидантного стресса можно использовать уровень цистеинил-глицина.

## Литература

1. Наумов, А. В. Гомоцистеин. Медико-биологические проблемы / А. В. Наумов. – Минск : Проф. изд., 2013. – 312 с.
2. Червяков, А. В. Нарушение молекулярной асимметрии аминокислот (d/L-энантиомеры) при нормальном старении и нейродегенеративных заболеваниях / А. В. Червяков // Асимметрия. – 2010. – Т. 4, № 2. – С. 77–112.
3. Гараева, О. И. Серосодержащие аминокислоты как маркеры состояния стресса / О. И. Гараева // Buletinul AŞM. Ştiinţele vieţii, Fiziologia şi Sanocreatologia. – 2011. – № 3. – С. 50–62.
4. Ганчар, Е. П. Уровень свободных аминокислот и их производных в сыворотке крови у женщин репродуктивного возраста, страдающих метаболическим синдромом / Е. П. Ганчар, М. В. Кажина // Журн. ГрГМУ. – 2014. – № 3. – С. 66–70.
5. Kurtay, G. A comparison of the effects of sequential transdermal versus continuous orally administered hormone replacement therapies on plasma total homocysteine levels in postmenopausal women: a randomized, placebo-controlled study / G. Kurtay, B. Ozmen // Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol. – 2007 Feb. – Vol. 130, N 2. – P. 206–211.
6. Homocysteine and the risk of cardiovascular events and all-cause death in elderly population: a community-based prospective cohort study / Z. Zhang [et al.] // Ther. Clin. Risk. Manag. – 2020 May. – Vol. 16. – P. 471–481.
7. The Contribution of homocysteine metabolism disruption to endothelial dysfunction: state-of-the-art / R. Esse [et al.] // Int. J. Mol. Sci. – 2019 Feb. – Vol. 20, N 4. – P. 867.
8. Kang, S. C. Hydrogen Sulfide as a potential Alternative for the Treatment of Myocardial Fibrosis / S. C. Kang, E. H. Sohn, S. R. Lee // Oxid. Med. Cell. Longev. – 2020 Jan. – Vol. 2020. – 4105382.
9. Наумов, А. В. Три пути реметилирования гомоцистеина / А. В. Наумов, И. В. Данильчик, Ю. В. Сарана // Журн. ГрГМУ. – 2016. – № 2. – С. 27–32.
10. Yang, Q. Imbalance of homocysteine and H2S: significance, mechanisms, and therapeutic promise in vascular injury / Q. Yang, G. W. He // Oxid. Med. Cell. Longev. – 2019 May. – Vol. 2019. – P. 1–11.
11. Биологическая роль глутатиона / О. А. Борисенко [и др.] // Мед. новости. – 2019. – № 7. – С. 3–8.
12. Наумов, А. В. Определение гомоцистеина методом ВЭЖХ с предколоночной дериватизацией в микрообъемах биологических жидкостей / А. В. Наумов, Е. М. Дорошенко // Аналитика РБ – 2010 : сб. тез. докл. Респ. науч. конф. по аналит. химии с междунар. участием «Аналитика РБ – 2010», Минск, Беларусь, 14–15 мая 2010 г. / отв. за вып. В. В. Егоров, А. Л. Гулевич, В. А. Назаров. – Минск, 2010. – С. 138.
13. Колбасова, Е. А. Сравнительная клинко-гормональная характеристика состояния здоровья и качество жизни женщин с хирургической и естественной менопаузой / Е. А. Колбасова, Н. И. Киселева, И. М. Арестова // Вестн. ВГМУ. – 2014. – Т. 13, № 2. – С. 78–86.
14. Serum  $\gamma$ -glutamyltransferase concentration predicts endothelial dysfunction in naive hypertensive patients / M. Perticone [et al.] // Biomedicine. – 2020 Jul. – Vol. 8, N 7. – P. 207.
15. Lee, D. H. Association between serum gamma-glutamyltransferase and C-reactive protein / D. H. Lee, D. R. Jacobs // Atherosclerosis. – 2005 Feb. – Vol. 178, N 2. – P. 327–330.
16. Behr, G. A. Increased blood oxidative stress in experimental menopause rat model: the effects of vitamin A low-dose supplementation upon antioxidant status in bilateral ovariectomized rats / G. A. Behr, C. E. Carlos, J.-C. Fonseca Moreira // Fundam. Clin. Pharmacol. – 2012 Apr. – Vol. 26, N 2. – P. 235–249.
17. Plasma gamma-glutamyltransferase, cysteinyl-glycine, and oxidized low-density lipoprotein: a pathway associated with myocardial infarction risk? / D. Drohan [et al.] // Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol. – 2010 Oct. – Vol. 30, N 10. – P. 2053–2058.

Поступила 30.11.2020 г.  
Принята в печать 15.02.2021 г.

## References

1. Naumov AV. Homocysteine. Medical and biological problems. Minsk, RB: Prof izd; 2013. 312 p. (In Russ.)
2. Chervakov AV. Disruption of the molecular asymmetry of amino acids (d / L-enantiomers) in normal aging and neurodegenerative diseases. *Asimetriia*. 2010;4(2):77-112. (In Russ.)
3. Garaeva OI. Sulfur Amino Acids as Markers of Stress. *Buletinul AȘM Științele Vieții Fiziologia și Sanocreatologia*. 2011;(3):50-62. (In Russ.)
4. Ganchar EP, Kazhina MV. The level of free amino acids and their derivatives in blood serum in women of reproductive age with metabolic syndrome. *Zhurn GrGMU*. 2014;(3):66-70. (In Russ.)
5. Kurtay G, Ozmen B. A comparison of the effects of sequential transdermal versus continuous orally administered hormone replacement therapies on plasma total homocysteine levels in postmenopausal women: a randomized, placebo-controlled study. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2007 Feb;130(2):206-11. doi: 10.1016/j.ejogrb.2006.05.021
6. Zhang Z, Gu Xiang, Fang X, Tang Z, Guan S, Liu H, et al. Homocysteine and the risk of cardiovascular events and all-cause death in elderly population: a community-based prospective cohort study. *Ther Clin Risk Manag*. 2020 May;16:471-481. doi: 10.2147/TCRM.S239496
7. Esse R, Barroso M, Tavares de Almeida I, Castro R. The Contribution of homocysteine metabolism disruption to endothelial dysfunction: state-of-the-art. *Int J Mol Sci*. 2019 Feb;20(4):867. doi: 10.3390/ijms20040867
8. Kang SC, Sohn EH, Lee SR. Hydrogen Sulfide as a potential Alternative for the Treatment of Myocardial Fibrosis. *Oxid Med Cell Longev*. 2020 Jan;2020:4105382. doi: 10.1155/2020/4105382
9. Naumov AV, Danilchik IV, Sarana IuV. Three pathways for homocysteine remethylation. *Zhurn GrGMU*. 2016;(2):27-32. (In Russ.)
10. Yang Q, He GW. Imbalance of homocysteine and H2S: significance, mechanisms, and therapeutic promise in vascular injury. *Oxid Med Cell Longev*. 2019 May;2019:1-11. doi: 10.1155/2019/7629673
11. Borisenok OA, Bushma MI, Basalai ON, Radkovets AIu. The biological role of glutathione. *Med Novosti*. 2019;(7):3-8. (In Russ.)
12. Naumov AV, Doroshenko EM. Determination of homocysteine by HPLC with precolumn derivatization in microvolumes of biological fluids. V: Egorov VV, Gulevich AL, Nazarov VA, otv za vyp. *Analitika RB – 2010: sb tez dokl Resp nauch konf po analit khimii s mezhdunar uchastiem «Analitika RB – 2010», Minsk, Belarus', 14–15 maia 2010 g.* Minsk, RB; 2010. P. 138. (In Russ.)
13. Kolbasova EA, Kiseleva NI, Arestova IM. Comparative clinical and hormonal characteristics of the health status and quality of life of women with surgical and natural menopause. *Vestn VGMU*. 2014;13(2):78-86. (In Russ.)
14. Perticone M, Maio R, Caroleo B, Sciacqua A, Suraci E, Gigliotti S, et al. Serum  $\gamma$ -glutamyltransferase concentration predicts endothelial dysfunction in naive hypertensive patients. *Biomedicine*. 2020 Jul;8(7):207. doi: 10.3390/biomedicine8070207
15. Lee DH, Jacobs DR. Association between serum gamma-glutamyltransferase and C-reactive protein. *Atherosclerosis*. 2005 Feb;178(2):327-30. doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2004.08.027
16. Behr GA, Carlos CE, Fonseca Moreira J-C. Increased blood oxidative stress in experimental menopause rat model: the effects of vitamin A low-dose supplementation upon antioxidant status in bilateral ovariectomized rats. *Fundam Clin Pharmacol*. 2012 Apr;26(2):235-49. doi: 10.1111/j.1472-8206.2010.00923.x
17. Drogan D, Weikert C, Dierkes J, Klipstein-Grobusch K, Buijsse B, Möhlig M, et al. Plasma gamma-glutamyltransferase, cysteinyl-glycine, and oxidized low-density lipoprotein: a pathway associated with myocardial infarction risk? *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2010 Oct;30(10):2053-8. doi: 10.1161/ATVBAHA.110.209346

Submitted 30.11.2020

Accepted 15.02.2021

## Сведения об авторах:

Колбасова Е.А. – к.м.н., доцент кафедры акушерства и гинекологии, Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет;

Киселева Н.И. – д.м.н., профессор, заведующая кафедрой акушерства и гинекологии, Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет;

Наумов А.В. – к.м.н., доцент кафедры биологической химии, Гродненский государственный медицинский университет.

## Information about authors:

Kolbasova E.A. – Candidate of Medical Sciences, associate professor of the Chair of Obstetrics and Gynecology, Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University;

Kiseleva N.I. – Doctor of Medical Sciences, professor, head of the Chair of Obstetrics and Gynecology, Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University;

Naumov A.V. – Candidate of Medical Sciences, associate professor of the Chair of Biological Chemistry, Grodno State Medical University.

**Адрес для корреспонденции:** Республика Беларусь, 210009, г. Витебск, пр. Фрунзе, 27, Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет, кафедра акушерства и гинекологии. E-mail: lankolb@rambler.ru – Колбасова Елена Анатольевна.

**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: lankolb@rambler.ru – Elena A. Kolbasova.

## УЛЬТРАЗВУКОВОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ЛЕГКИХ У ПАЦИЕНТОВ С ПНЕВМОНИЕЙ, АССОЦИИРОВАННОЙ С ИНФЕКЦИЕЙ COVID-19

ГАВРИЛЕНКО Д.И., ДОМАНЦЕВИЧ В.А., ФИЛЮСТИН А.Е., ДОМАНЦЕВИЧ А.В.

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

Вестник ВГМУ. – 2021. – Том 20, №1. – С. 81-90.

## LUNG ULTRASOUND IN PATIENTS WITH COVID-19 INFECTION ASSOCIATED PNEUMONIA

HAURYLENKA D.I., DAMANTSEVICH V.A., FILUSTSIN A.E., DAMANTSEVICH A.V.

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

Vestnik VGMU. 2021;20(1):81-90.

---

### Резюме.

Метод ультразвукового исследования (УЗИ) легких известен более 20 лет, но привлек значительное внимание в период эпидемии инфекции COVID-19.

Цель исследования – оценка возможности эхоскопической визуализации изменений в легких с применением 12-зонного протокола у амбулаторных пациентов с пневмонией, ассоциированной с инфекцией COVID-19.

Материал и методы. Обследовано 39 амбулаторных пациентов, имеющих диагностические критерии инфекции COVID-19 (17 мужчин и 22 женщины) в возрасте 31-75 лет (медиана 49 лет). Всем пациентам сразу же после компьютерной томографии органов грудной клетки (КТ ОГК) заслепленным специалистом было выполнено УЗИ легких. Выполнены корреляционный анализ результатов количественной оценки обнаруженных изменений, а также оценка информативности метода УЗИ легких для диагностики пневмонии.

Результаты. Признаки пневмонии по данным КТ ОГК обнаружены у 25 пациентов (64%; 95% ДИ 47-79). Эхоскопические признаки интерстициальных изменений выявлены у 31 пациента. При оценке информативности метода оптимальное соотношение чувствительность/специфичность получены для значения  $\geq 2$  балла, площадь под кривой (ППК) = 0,970 (95%ДИ 0,858-0,999;  $p < 0,0001$ ). Балльная оценка УЗИ легких значимо коррелировала с количественной оценкой при КТ ОГК ( $r = 0,928$ ,  $p < 0,001$ ).

Заключение. Метод УЗИ легких может быть крайне полезным в условиях оказания первичной медицинской помощи, в условиях значительного потока поступающих пациентов для выявления изменений, характерных для COVID-19 ассоциированной пневмонии.

*Ключевые слова:* ультразвуковое исследование легких, COVID-19, прикроватное ультразвуковое исследование.

### Abstract.

The method of the lung ultrasound (LUS) has been known for more than 20 years, but attracted attention during the epidemic of COVID-19 infection.

Objectives. To evaluate the possibility of detecting LUS features using a 12-zone protocol in outpatients with pneumonia associated with COVID-19 infection.

Material and methods. We examined 39 outpatients with diagnostic criteria for COVID-19 infection (17 men and 22 women) aged 31-75 years (median 49 years). All patients underwent ultrasound of the lungs immediately after computerized tomography (CT) scan by a blinded specialist. Correlation analysis of the results of the quantitative assessment of the detected changes, as well as the assessment of the diagnostic value of the pulmonary ultrasound method for identifying the signs of pneumonia were performed.

Results. CT diagnosis of pneumonia was found in 25 patients (64%; 95% CI 47-79). Ultrasound signs of interstitial abnormalities were detected in 31 patients. When evaluating the method informativeness, the optimal sensitivity/specificity ratio was obtained for a value of  $\geq 2$  points, the area under the curve (AUC) = 0.970 (95% CI 0.858-0.999;  $p < 0.0001$ ).

The score of the lung ultrasound significantly correlated with the quantitative assessment on CT scan ( $r=0.928$ ,  $p<0.001$ ). Conclusions. Pulmonary ultrasound can be very useful in the conditions of providing primary care, in the conditions of a significant number of admitted patients to detect features of COVID-19 associated pneumonia.

*Key words: lung ultrasound, COVID-19, bedside ultrasound.*

Основными методами диагностики патологических изменений органов грудной клетки пациентов с подозрением на пневмонию с инфекцией COVID-19 являются компьютерная томография и обзорная рентгенография. Выбор метода лучевой визуализации определяется техническими возможностями (оборудование) и кадровыми ресурсами учреждения здравоохранения, а также структурой и количеством поступающих пациентов.

Стандартная рентгенография органов грудной клетки (РГ ОГК) может быть использована при отсутствии технической возможности выполнить компьютерную томографию, так как имеет низкую чувствительность в выявлении ранних изменений на начальной стадии заболевания [1]. Информативность РГ ОГК повышается у пациентов с тяжелой пневмонией на поздней стадии процесса, кроме того, метод имеет достаточную чувствительность для диагностики отека легких [2]. Для пациентов отделения интенсивной терапии может быть использован передвижной рентгеновский аппарат, имеющий собственные ограничения информативности. Таким образом, одним из немногих преимуществ стандартной РГ ОГК являются высокая пропускная способность, обусловленная длительностью исследования.

Компьютерная томография фактически является методом «золотого стандарта» выявления изменений в легочной ткани, характерных для пневмоний, ассоциированных с COVID-19. Применение КТ ОГК является оптимальным для стартовой оценки органов грудной клетки при наличии клинических признаков инфекции COVID-19 у пациентов, требующих госпитализации по тяжести состояния [3]. Метод незаменим при клинической картине тяжелой дыхательной недостаточности для дифференциальной диагностики причин. Основными ограничениями КТ ОГК являются техническая сложность выполнения исследования для части пациентов, находящихся на искусственной вентиляции легких, более высокая, в сравнении с РГ ОГК, дозовая нагрузка, более низкая пропускная способность. Следует понимать, что изменения, выявленные при КТ ОГК, не являются высокоспецифичными

в отношении этиологического фактора патологического процесса [4]. Другими словами, не смотря на существование ряда КТ-паттернов, данный метод, как и другие методы визуализации, не заменяет лабораторное тестирование инфекции COVID-19. Метод КТ ОГК не рекомендован для скрининга, в т.ч. при положительных лабораторных тестах инфекции COVID-19 [3].

Традиционно считается, что легкие недоступны для ультразвукового исследования по причине рассеяния ультразвуковых волн в среде заполненных воздухом альвеол. В то же время, при сканировании легких может быть обнаружен ряд статических и динамических признаков. УЗИ легких обеспечивает визуализацию, основанную как на «истинных» изображениях, так и на артефактах. Фактически только в областях, где полностью отсутствует воздух (полная консолидация), создается «истинное» изображение легочной ткани, что указывает на патологию. Наличие воздуха в субплевральной паренхиме, напротив, создает артефакты изображения, связанные с отражением и реверберацией ультразвуковой волны. Реверберация обусловлена высоким акустическим импедансом на границе раздела между преплевральными плотными тканями и нормально аэрированным легким [5]. Границей раздела является место контакта париетального и висцерального листков плевры, эхоскопически выглядящая как гиперэхогенная поперечная линия – «плевральная линия» [5]. При УЗИ нормального легкого визуализация истинных изображений за пределами плевральных слоев невозможна, но возможно выявление различных типов артефактов, связанных с реверберацией. Ключевым фактором, определяющим текущий вид визуализируемой области, является соотношение «воздух / жидкость» в субплевральной паренхиме легких [5]. Данное соотношение определяет характеристики возможных вариантов: 1) нормально вентилируемое легкое образует однородную отражающую поверхность, формирующую поперечные артефакты, параллельные плевральной линии «линии А»; 2) частичная потеря воздушности – из-за инфильтрации жидкостью и/или клетками субплеврального слоя легочной

ткани формируются четко отграниченные микро-скопические трехмерные аэрированные структуры (аэрированные альвеолы и/или ацинусы, окруженные жидкостью или клетками), представляющие собой отражатели ультразвуковой волны и источники реверберации, что приводит к появлению продольных сигналов по типу «хвост кометы» – «В-линии»; 3) полное отсутствие воздуха даже в небольших участках под висцеральной плеврой (субплевральная консолидация) восстанавливает благоприятные условия для передачи ультразвука с частичным отражением, легочная ткань визуализируется как солидный орган [2, 5, 6].

Таким образом, нормально аэрированная легочная ткань или, точнее, ткань с относительно «уменьшенной» воздушностью является артефактом изображения. Аэрация может быть снижена из-за потери воздуха – развитие ателектаза, накопления жидкости или инфильтрации клетками интерстициального и/или альвеолярного пространства (пневмония, отек, фиброз или альвеолит), что создает отличные от нормы профили, выявляемые при УЗИ легких.

Цель исследования – оценить диагностическую значимость 12-зонного протокола УЗИ лег-

ких для визуализации изменений у амбулаторных пациентов с пневмонией, ассоциированной с инфекцией COVID-19.

## Материал и методы

Дизайн исследования – одномоментное (поперечное) сравнительное исследование. В исследование включены 39 амбулаторных пациентов, имеющих диагностические критерии инфекции COVID-19 (17 мужчин и 22 женщины) в возрасте 31-75 лет (медиана 49 лет), направленных для выполнения КТ ОГК в рентгеновское отделение консультативной поликлиники ГУ «Республиканский научно-практический центр радиационной медицины и экологии человека», г. Гомель, в период с ноября по декабрь 2020 г.

Диагноз инфекции COVID-19 устанавливали на основании критериев, указанных в п. 14.1 «Рекомендаций об организации оказания медицинской помощи пациентам с инфекцией COVID-19», утвержденных приказом МЗ РБ №1195 от 11.11.2020.

Основные характеристики пациентов, включенных в исследование, представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Общая характеристика демографических и клинических данных пациентов, включенных в исследование

Характеристики	Пациенты, n=39
Возраст, лет, Me [Q1;Q3]	49 [39;61]
Пол, мужчины/женщины, абс.(%)	17 (44) / 22 (56)
Симптомы, абс. (%; 95% ДИ):	
лихорадка	35 (90; 76-97)
кашель	26 (67; 50-81)
мокрота	12 (31; 17-48)
одышка	18 (46; 30-63)
боль в грудной клетке	7 (18; 8-34)
аносмия	7 (18; 8-34)
потливость	5 (13; 4-27)
Сатурация гемоглобина кислородом, (%), Me [Min;Max]	98 [82;90]
Длительность симптомов, дней, Me [Min;Max]	9 [3;30]
Без сопутствующих заболеваний, абс. (%; 95% ДИ)	16 (41; 26-58)
Сопутствующие заболевания, Me [Min;Max]:	2 [1;5]
артериальная гипертензия:	16
1 степень	7
2 степень	7
3 степень	2
ожирение	11
неалкогольная жировая болезнь печени	9
ишемическая болезнь сердца	6
сахарный диабет 2 типа	4
хронический бронхит	3
хронический пиелонефрит	2
отдаленный период ОНМК	1

Кроме лабораторного подтверждения инфекции COVID-19, все 39 пациентов имели клинические признаки, указывающие на возможный острый респираторный процесс. Наиболее частыми из них были лихорадка, кашель с/без отделения мокроты, одышка.

В качестве дополнительного метода визуализации изменений при пневмонии, ассоциированной с COVID-19 инфекцией, использовали УЗИ легких. Исследование выполнялось в течение 15-20 минут после КТ ОГК, врачом, не знавшим результаты выполненного исследования. УЗИ легких выполняли на аппарате «Vivid E9» (General Electric, Норвегия) с использованием конвексного датчика (частота 1,8-6,0 МГц) в положении пациента сидя с оценкой изменений в 12 зонах – 6 слева, 6 справа (табл. 2). В протоколе исследования фиксировали изменение профиля легкого, отличного от нормального, в каждой из 12 зон от 1 до 3 баллов по Soldati et al. [6]: > 3 четко разделенных В-линий в поле (интерстициальные изменения) = 1 балл; В-линии широкие или сливаются в «белое легкое» +/- субплевральная консолидация = 2 балла; обширная консолидация +/- «белое легкое» = 3 балла. Далее баллы суммировали (максимальное количество = 36 баллов). Кроме суммы баллов, в каждой из зон выполнялся поиск эхокопических признаков, соответствующих осложнениям или сопутствующим состояниям (экссудативный плеврит, респираторный дистресс-синдром, пневмоторакс, ателектаз легкого, отек легких), которые отмечали как дополнительные профили патологических изменений (осложнений): пневмоторакс; отсутствие скольжения плевры; выпот; легочный пульс; точки легкого. Выделенным 12 зонам соответствовали субплевральные участки анатомических сегментов, указанных в таблице 2.

В качестве референтного метода для диагностики пневмонии была принята КТ ОГК. Ска-

нирование грудной клетки осуществляли по стандартному протоколу на аппарате «DISCOVERY 750HD» (General Electric, США), в положении пациента на спине, с заведенными за голову руками, при спокойном задержанном вдохе.

Статистическую обработку результатов выполняли в операционной среде «Windows-XP» с использованием пакета прикладных программ «STATISTICA 6.0» (Stat Soft, GS-35F-5899H; США) и «MedCalc» (version 9.6.2.0; Бельгия). Так как распределение данных отличалось от нормального, использовали методы непараметрической статистики: медиана (Me), минимальное (Min) и максимальное (Max) значения, 25-й (Q1) и 75-й (Q3) процентиля, 95%-ный доверительный интервал (95% ДИ). Взаимосвязь количественных признаков оценивали по методу Спирмена с определением коэффициента ранговой корреляции. Для определения информативности метода исследования выполняли построение характеристических кривых (ROC-кривых). Для оценки диагностической ценности дополнительного метода проводилось сравнение с референтным методом. Статистически значимыми считали различия на уровне  $p < 0,05$ .

## Результаты и обсуждение

По данным КТ ОГК из 39 пациентов, включенных в исследование, у 25 (64%; 95%ДИ 47-79) была диагностирована пневмония, которая в соответствии с критериями была расценена как ассоциированная с инфекцией COVID-19. Сравнительная характеристика некоторых параметров пациентов с обнаруженной пневмонией и без пневмонии представлена в таблице 3.

Пациенты сравниваемых групп не имели статистически значимых различий по основным параметрам. Наблюдалась тенденция к более

Таблица 2 – Границы исследуемых областей в соответствии с анатомическими ориентирами

	Поверхность									
		задняя			боковая			передняя		
		справа	слева		справа	слева		справа	слева	
Верх	l. paravertebralis	S1, S2, S6	S1, S2, S6	l. axillaris posterior	S1, S2, S3, S4	S1, S2, S3, S4, S6	l. axillaris anterior	S1, S3	S1, S3, S4	l. parasternalis
		VI ребро			V ребро			IV ребро		
Низ		S6, S10, S9	S10		S4, S8	S8, S9, S10		S4, S5, S8	S4, S5, S8	

Таблица 3 – Сравнительная характеристика некоторых параметров пациентов с инфекцией COVID-19 с и без пневмонии

Характеристики	Пациенты с пневмонией, n=25	Пациенты без пневмонии, n=14	U/ $\chi^2$	p
Возраст, лет, Ме [Q1;Q3]	49 [31;75]	48 [32;69]	139,0	0,291
Пол, мужчины/женщины, абс.(%)	10(40)/15(60)	7(50)/7(50)	0,36	0,546
Длительность симптомов, дней Ме [Q1;Q3]	8 [3;23]	12 [6;60]	111,0	0,062
Симптомы, абс.:				
лихорадка	23	12	1,23	0,608
одышка	11	6		0,945
кашель	17	7		0,268
мокрота	7	4		0,624
аносмия	6	0		0,054
Сопутствующие заболевания	15	8	0,03	0,862

длительному периоду клинических симптомов инфекционного процесса в группе пациентов без пневмонии, что, вероятно, было обусловлено наличием в данной группе 3 пациентов с хрониче-

ским бронхитом. Пациенты с пневмонией чаще указывали среди жалоб anosmia. Основными симптомами инфекции COVID-19 в обеих группах были лихорадка, кашель и одышка.

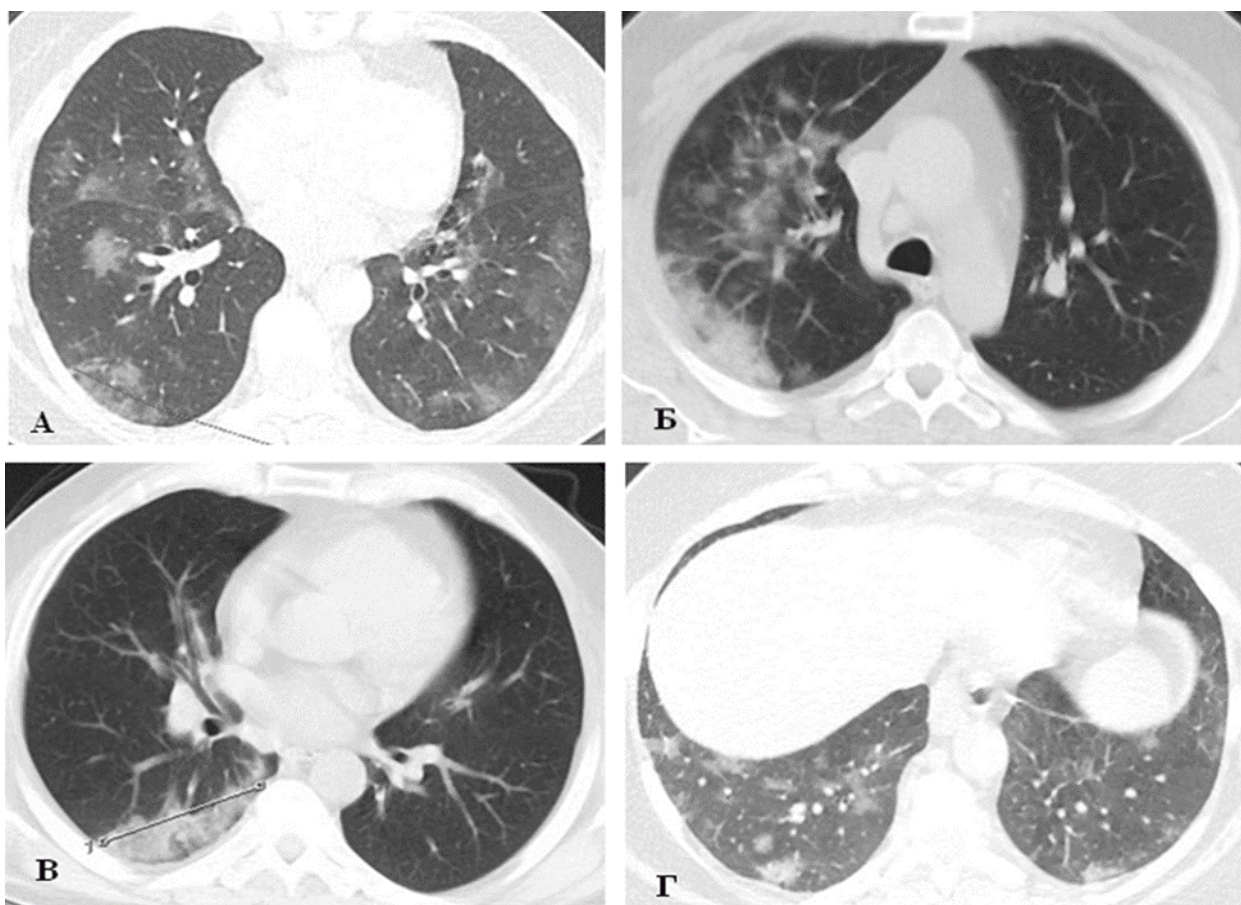


Рисунок 1 – Изменения легких при COVID-19 ассоциированной пневмонии по данным компьютерной томографии: А – Участки инфильтрации по типу «матового стекла», преимущественно субплевральные; Б – Разновеликие участки инфильтрации по типу «матового стекла» с субплевральными участками консолидации; В – Обширный субплевральный инфильтрат с участками консолидации; Г – Множественные небольшие участки инфильтрации по типу «матового стекла» с очагами консолидации.



Пациенты с выявленной при КТ пневмонией имели типичные для COVID-19 признаки по оценке CO-RADS [3]. Медиана распространения поражения паренхимы, измеренное с помощью визуальной оценки, составила 30% (Q1=14; Q3=40). Двустороннее поражение было обнаружено в 92% случаев (95% ДИ 74-99). Наиболее частыми КТ-признаками были мультифокальные, субплевральные и/или по ходу междолевой плевры, двусторонние уплотнения легочной ткани по типу «матового стекла», участки консолидации легочной ткани, ретикулярные изменения (рис. 1).

Все 25 пациентов с подтвержденной по данным КТ ОГК пневмонией имели эхокопические признаки интерстициальных изменений паренхимы легких. Наиболее часто обнаруживались интерстициальные изменения: множественные (узкие) В-линии, сливающиеся (широкие) В-линии, а также участки субплевральной консолидации и «белое легкое» (рис. 2). Незначительный плевральный выпот был обнаружен лишь у 2 пациентов с пневмонией. У 6 пациентов по результатам УЗИ легких были обнаружены признаки интерстициальных изменений, не получившие подтверждения при оценке данных КТ ОГК. Из них эхокопические изменения в 4 случаях были представлены узкими В-линиями (нижняя боковая поверхность слева и справа), в 2 – единичным участком незначительной субплевральной консолидации. Изменения в двух последних случаях были более детально изучены и сопоставлены с изображениями, полученными при КТ ОГК. В одном случае у пациентки 57 лет в зоне, соответствующей эхокопическим изменениям, был обнаружен внутриорганный лимфатический узел размером 5мм (рис. 3 А, Б), в другом – мужчина 38 лет имел линейный участок фиброза в нижней доле левого лёгкого (рис. 3 В). Во всех 6 случаях сумма баллов составила 2, клинически пациенты имели жалобы и признаки, характерные для острого респираторного заболевания.

Значительный объем поражения легочной ткани по данным КТ ОГК (объем поражения до 60%) имели только два пациента. Эхокопически в данных случаях были выявлены участки обширной консолидации сливающихся В-линий с формированием феномена «белого легкого» (сумма баллов 22 и 24 из 36), клинические признаки – выраженная одышка, тахипноэ, низкое насыщение гемоглобина кислородом (ниже 90%), что являлось показанием к кислородотерапии.

Далее было выполнено построение характеристической кривой (ROC-кривая) с целью

определения точки отсечения, оптимально отражающей соотношение чувствительность/специфичность для значений баллов при УЗИ легких (рис. 4).

Как показал анализ, оптимальным соотношением чувствительность/специфичность обладала точка отсечения >2 баллов: чувствительность =88,0% (95% ДИ 68,8-97,5), специфичность =100,0% (95% ДИ 76,8-100,0). ППК составила 0,970 (95%ДИ 0,858-0,999;  $p<0,0001$ ), что соответствует модели отличного качества. Вероятность обнаружить пневмонию при значении >2 баллов составляет 100% (прогностическая ценность положительного результата (ППЦ) =100%). Крайне важным является значение прогностической ценности отрицательного результата (ОПЦ) при УЗИ легких – вероятность отсутствия заболевания при отрицательном результате составила 100%.

Результаты определения чувствительность (Ч), специфичность (С), ППК, ОПЦ метода при разных значениях суммы баллов приведены в таблице 4.

Далее изменения, выявленные при КТ ОГК, были сопоставлены по анатомическим зонам, исследуемым при УЗИ легких. По каждой из полученных КТ-зон была дана балльная оценка изменений легочной паренхимы. Выполнен корреляционный анализ баллов, полученных при УЗИ легких и КТ ОГК. График рассеяния объектов исследования в координатах представлен на рисунке 5.

Получена сильная статистически значимая положительная корреляция ( $r=0,928$ , 95%ДИ 0,867-0,962,  $p<0,001$ ), что дает основание, наряду с результатами ROC-анализа, считать метод УЗИ легких приемлемым для оценки вовлеченности изменений легочной паренхимы у пациентов с COVID-19 ассоциированной пневмонией, в том числе для оценки степени распространения патологического процесса.

#### **Ограничения метода**

Основным ограничением нашего исследования мы считаем небольшой размер выборки, что требует продолжения работы, в том числе динамической оценки изменений в группе пациентов с установленной пневмонией.

Важным обстоятельством является отсутствие визуализации глубоко расположенных структур легочной ткани (рис. 3 Г). Возможность визуализации таких участков появлялась лишь при массивной потере воздушности субплевраль-

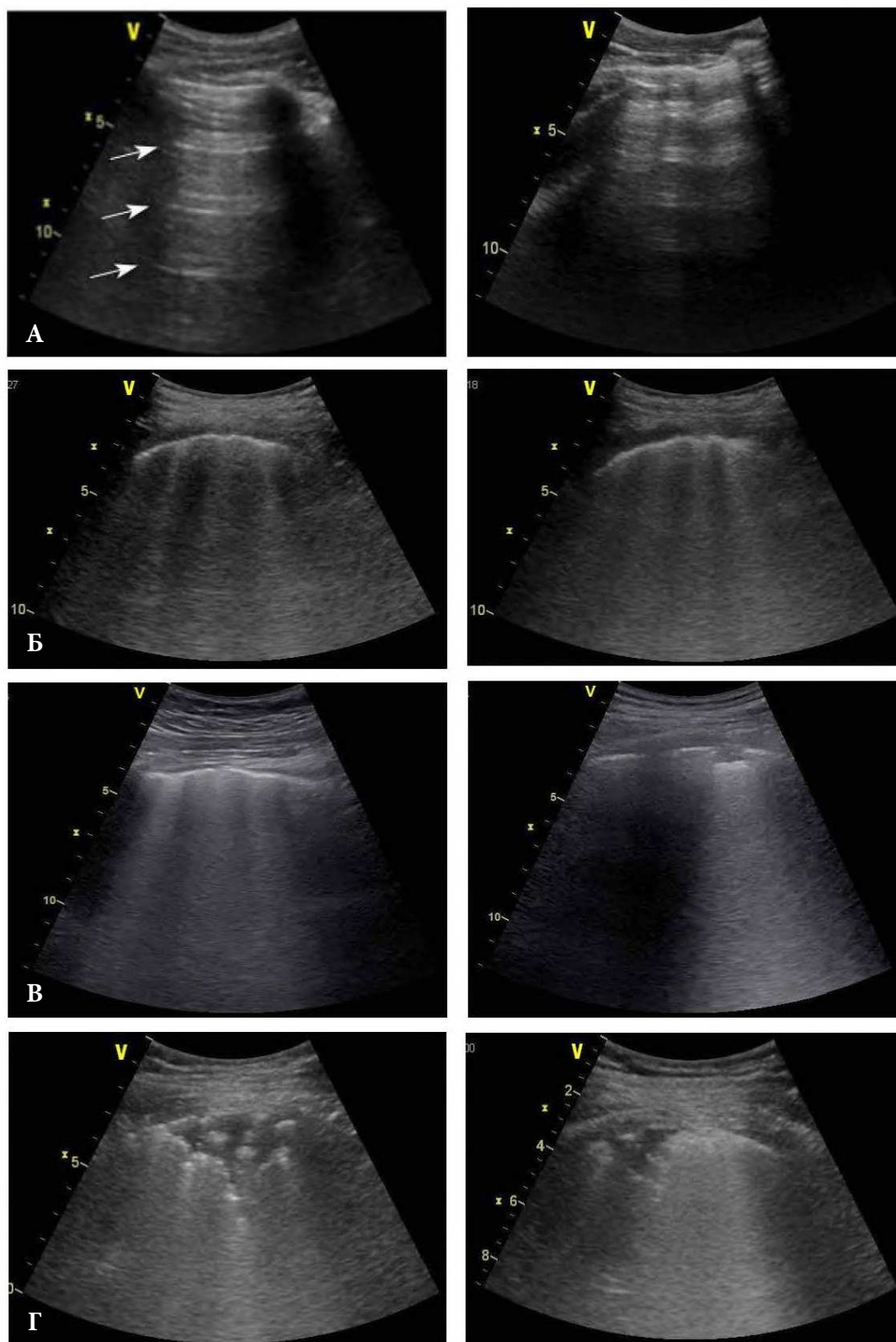


Рисунок 2 – Эхоскопические профили при исследовании легких: А – Норма (А-линии); Б – Узкие В-линии, более 3 в одной зоне; В – Широкие В-линии, сливающиеся. Субплевральная консолидация, прерывистая плевральная линия; Г – Массивная консолидация, феномен «белого легкого».

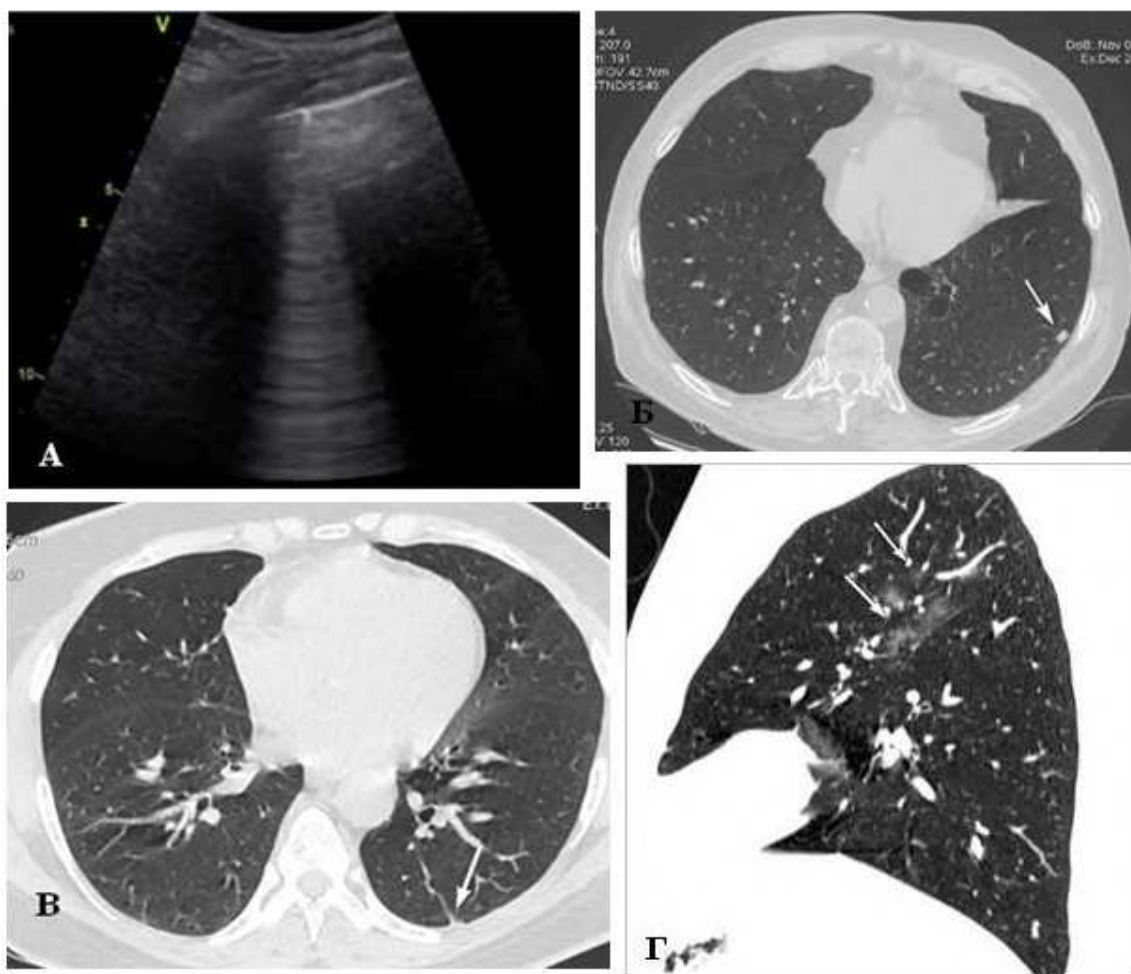


Рисунок 3 – А, Б. Внутриорганный лимфатический узел: эхоскопическое изображение (слева) и томограмма (справа); В – Участок линейного фиброза; Г – Участки инфильтрации вдоль междолевой плевры, не выявленные при ультразвуковом исследовании легких.

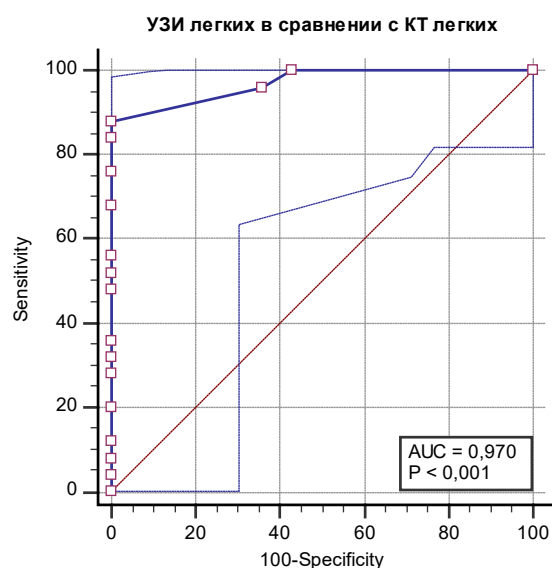


Рисунок 4 – Диагностическая значимость УЗИ легких для выявления пневмонии, ассоциированной с инфекцией COVID-19.

ных участков, например, при их консолидации. Кроме того, сегменты S7 слева и справа совершенно недоступны эхоскопической оценке.

Некоторые эхоскопические признаки, обнаруживаемые при COVID-19 ассоциированной пневмонии, могут встречаться при ряде других патологических процессов в легочной паренхиме – пневмонии другой этиологии (в т.ч. бактериальной), респираторный дистресс-синдром, левожелудочковая недостаточность, ателектаз, абсцесс, фиброз (в т.ч. поствоспалительный). Таким образом, вероятно, следует ожидать снижение прогностической ценности положительного результата УЗИ легких при снижении уровня заболеваемости инфекцией COVID-19 и ассоциированного поражения легочной ткани. При оценке результатов исследования крайне важно оценивать клинические данные и эпидемиологическую обстановку [6]. В нашем исследовании

Таблица 4 – Операционные характеристики точек отсечения суммы баллов при ультразвуковом исследовании легких пациентов с COVID-19 ассоциированной пневмонией

Значение, сумма баллов	Ч, %	95% ДИ	С, %	95% ДИ	ППЦ, %	ОПЦ, %
$\geq 0$	100,00	86,3 - 100,0	0,00	0,0 - 23,2	64,1	
$> 0$	100,00	86,3 - 100,0	57,14	28,9 - 82,3	80,6	100,0
$> 1$	96,00	79,6 - 99,9	64,29	35,1 - 87,2	82,8	90,0
$> 2$	88,00	68,8 - 97,5	100,00	76,8 - 100,0	100,0	82,4

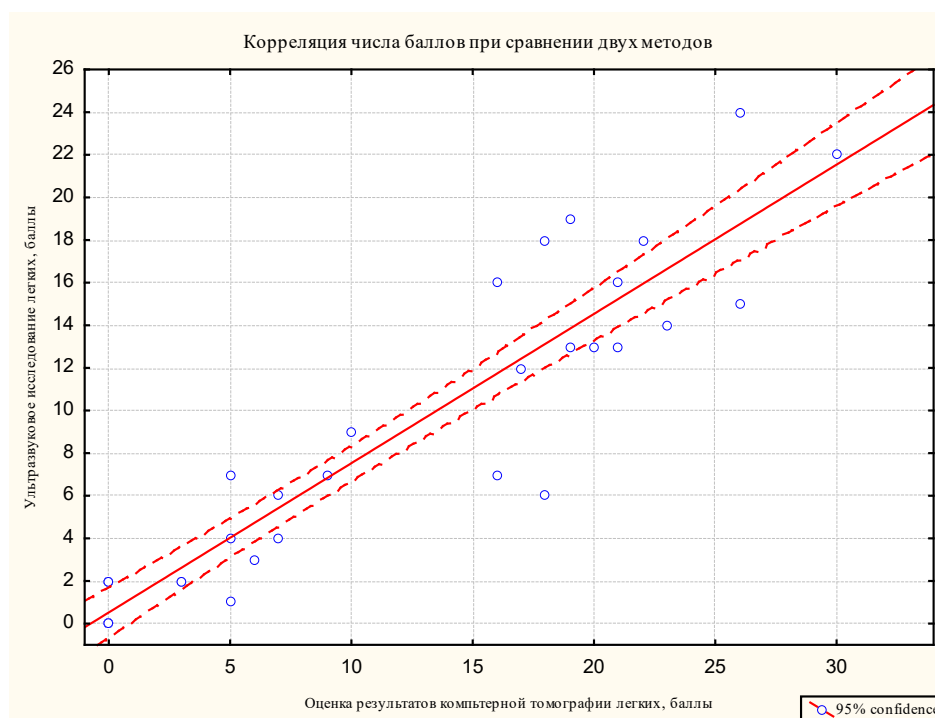


Рисунок 5 – Корреляция числа баллов при оценке изменений в легких методом ультразвукового исследования и компьютерной томографии.

оценка метода выполнялась в группе пациентов, имеющих лабораторное подтверждение инфекции COVID-19. На наш взгляд, более важным является изучение результатов применения метода в других популяциях пациентов, например, до выполнения лабораторных тестов на SARS-CoV-2, а также у лиц, не имеющих клинических признаков инфекции COVID-19 (бессимптомное течение).

### Заключение

При использовании УЗИ легких для диагностики патологических изменений у пациентов с пневмонией, ассоциированной с инфекцией COVID-19 оптимальным соотношением чувствительность/специфичность обладала точка отсечения  $\geq 2$  баллов: чувствительность = 88%, специ-

фичность = 100%, ППК составила 0,970 (95%ДИ 0,858-0,999;  $p < 0,0001$ ), что соответствует модели отличного качества.

Предварительный анализ полученных данных демонстрирует, что метод УЗИ легких может быть полезным для выявления изменений в легких, характерных для инфекции COVID-19 у пациентов с тяжестью заболевания, соответствующей легкой, умеренной и среднетяжелой степени по данным КТ ОГК. Полученные результаты, вероятно, обусловлены типичной локализацией интерстициальных изменений в легких при данном виде вирусной инфекции. Результаты оценки вовлечения легочной паренхимы в патологический процесс коррелировали с балльной оценкой при КТ грудной клетки ( $r = 0,928$ , 95% ДИ 0,867-0,962,  $p < 0,001$ ).

Метод УЗИ легких может быть крайне полезным в условиях оказания первичной меди-

цинской помощи, при отсутствии компьютерного томографа, в условиях отделения интенсивной терапии, для «прикроватной» диагностики. В то же время необходимо дальнейшее изучение метода в гетерогенных популяциях, а также валидация метода для других интерстициальных заболеваний легких.

## Литература

1. Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции [Электронный ресурс] : времен. метод. рекомендации : версия 7 от 03.06.2020 / М-во здравоохранения Российской Федерации. – Режим доступа: <http://nasci.ru/?id=12809>. – Дата доступа: 27.01.2021.

## References

1. M-vo zdravookhraneniia Rossiiskoi Federatsii. Prevention, diagnosis and treatment of new coronavirus infection [Elektronnyi resurs]: vremen metod rekomendatsii: versii 7 ot 03.06.2020. Rezhim dostupa: <http://nasci.ru/?id=12809>. Data dostupa: 27.01.2021. (In Russ.)
2. Cardinale L, Priola AM, Moretti F, Volpicelli G. Effectiveness of chest radiography, lung ultrasound and thoracic computed tomography in the diagnosis of congestive heart failure. *World J Radiol.* 2014 Jun;6(6):230-7. doi: 10.4329/wjr.v6.i6.230
3. Mikhailov AN, Nechiporenko AS, Vodanova OV. CT

2. Effectiveness of chest radiography, lung ultrasound and thoracic computed tomography in the diagnosis of congestive heart failure / L. Cardinale [et al.] // *World J. Radiol.* – 2014 Jun. – Vol. 6, N 6. – P. 230–237.
3. Михайлов, А. Н. КТ-семиотика COVID-19 / А. Н. Михайлов, А. С. Нечипоренко, О. В. Водянова // *Мед. новости.* – 2020. – № 6. – P. 4–8.
4. Walker, C. M. Müller's Imaging of the Chest / C. M. Walker, J. H. Chung. – 2nd ed. – Philadelphia : Elsevier, 2019. – 1152 p.
5. Lichtenstein, D. The dynamic air bronchogram. A lung ultrasound sign of alveolar consolidation ruling out atelectasis / D. Lichtenstein, G. Meziere, J. Seitz // *Chest.* – 2009 Jun. – Vol. 135, N 6. – P. 1421–1425.
6. Proposal for International Standardization of the Use of Lung Ultrasound for Patients with COVID-19: A Simple, Quantitative, Reproducible Method / G. Soldati [et al.] // *J. Ultrasound Med.* – 2020 Jul. – Vol. 39, N 7. – P. 1413–1419.

Поступила 24.12.2020 г.

Принята в печать 15.02.2021 г.

semiotics COVID-19. *Med Novosti.* 2020;(6):4-8. (In Russ.)

4. Walker CM, Chung JH. Müller's Imaging of the Chest. 2nd ed. Philadelphia: Elsevier; 2019. 1152 p.
5. Lichtenstein D, Meziere G, Seitz J. The dynamic air bronchogram. A lung ultrasound sign of alveolar consolidation ruling out atelectasis. *Chest.* 2009 Jun;135(6):1421-1425. doi: 10.1378/chest.08-2281
6. Soldati G, Smargiassi A, Inchingolo R, Buonsenso D, Perrone T, Briganti DF, et al. Proposal for International Standardization of the Use of Lung Ultrasound for Patients with COVID-19: A Simple, Quantitative, Reproducible Method. *J Ultrasound Med.* 2020 Jul;39(7):1413-1419. doi: 10.1002/jum.15285

Submitted 24.12.2020

Accepted 15.02.2021

## Сведения об авторах:

Гавриленко Д.И. – к.м.н., врач функциональной диагностики, заведующий отделением функциональной диагностики, Республиканский научно-практический центр радиационной медицины и экологии человека, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7496-6164>;

Доманцевич В.А. – к.м.н., врач-рентгенолог, Республиканский научно-практический центр радиационной медицины и экологии человека;

Филюстин А.Е. – врач-рентгенолог, заведующий рентгеновским отделением, Республиканский научно-практический центр радиационной медицины и экологии человека;

Доманцевич А.В. – врач-рентгенолог, Республиканский научно-практический центр радиационной медицины и экологии человека.

## Information about authors:

Haurylenka D.I. – Candidate of Medical Sciences, functional diagnosis doctor, head of the department of functional diagnosis, Republican Research Center for Radiation Medicine and Human Ecology,

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7496-6164>;

Damantsevich V.A. – Candidate of Medical Sciences, radiologist, Republican Research Center for Radiation Medicine and Human Ecology;

Filustsin A.Y. – radiologist, head of the roentgenologic department, Republican Research Center for Radiation Medicine and Human Ecology;

Damantsevich H.V. – radiologist, Republican Research Center for Radiation Medicine and Human Ecology.

**Адрес для корреспонденции:** Республика Беларусь, 246000, г. Гомель, ул. Ильича, 290, Республиканский научно-практический центр радиационной медицины и экологии человека, научный отдел. E-mail: [dm.gavrilenko891@gmail.com](mailto:dm.gavrilenko891@gmail.com) – Гавриленко Дмитрий Иванович.

**Correspondence address:** Republic of Belarus, 246000, Gomel, 5 Ilichea str., Republican Research Center for Radiation Medicine and Human Ecology, Scientific Department. E-mail: [dm.gavrilenko891@gmail.com](mailto:dm.gavrilenko891@gmail.com) – Dzmitry I. Haurylenka.

## КЛИНИКО-ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ СВЯЗИ ПРОФЕССИОНАЛЬНОЙ БРОНХОЛЕГОЧНОЙ ПАТОЛОГИИ СО СТАЖЕМ РАБОТЫ НА ПРЕДПРИЯТИЯХ ЛЬНОПЕРЕРАБОТКИ

ЕФРЕМОВА Л.А., КОРОБОВ Г.Д., ГЛУШАНКО В.С.

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

Вестник ВГМУ. – 2021. – Том 20, №1. – С. 91-98.

## CLINICAL AND EPIDEMIOLOGICAL ANALYSIS OF THE RELATIONSHIP BETWEEN OCCUPATIONAL BRONCHOPULMONARY PATHOLOGY AND WORK EXPERIENCE AT FLAX PROCESSING ENTERPRISES

YEFREMOVA L.A., KOROBOV G.D., GLUSHANKO V.S.

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

Vestnik VGMU. 2021;20(1):91-98.

---

### Резюме.

Целью исследования явилось выявление особенностей структуры профессиональной патологии на льноперерабатывающих предприятиях и установление влияния стажа работы в неблагоприятных условиях труда на степень постоянной утраты трудоспособности.

Материал и методы. Анализ проводился по 23 случаям профессиональных заболеваний работников льноперерабатывающих предприятий. В работе применен метод сравнительного анализа с использованием точного критерия Фишера, корреляционный анализ Пирсона, метод обобщенных нелинейных моделей (GNMZ).

Результаты. В ходе проведенного исследования было показано, что на льноперерабатывающих предприятиях доля профессиональных заболеваний с бронхолегочной патологией была равна 73,9%. Расчетным путем было определено, что минимальное значение стажа работы в условиях профессиональной вредности до установления диагноза профессионального заболевания с инвалидностью составило 17,2 года.

Заключение. Структура профессиональной патологии на льноперерабатывающих предприятиях области имеет свою специфику, проявляющуюся главенствующей долей патологии со стороны органов дыхания. Установлено расчетное минимальное значение среднего стажа работы в условиях пылевых нагрузок, приводящее к развитию профессионального заболевания с инвалидностью.

*Ключевые слова: профессиональные заболевания, инвалидность, сравнительный анализ, корреляционный анализ, обобщенные нелинейные модели.*

### Abstract.

Objectives. To identify the structural features of occupational pathology at flax processing enterprises and to determine the influence of work experience in unfavorable working conditions on the degree of permanent disability.

Material and methods. The analysis was carried out on 23 cases of occupational diseases of flax processing enterprises workers. The research applies the method of comparative analysis with the use of the exact Fisher criterion, Pearson's correlation analysis, and the method of generalized non-linear models (GNMs).

Results. As a result of the study it was shown that the share of occupational diseases with bronchopulmonary pathology at flax processing enterprises amounted to 73.9%. By calculation it was determined that the minimum value of work experience in conditions of occupational hazard before diagnosing an occupational disease with disability made up 17.2 years.

Conclusions. The structure of professional pathology at flax processing enterprises of the region has its own specifics, which is manifested by the predominant share of pathology on the part of the respiratory organs. The calculated minimum

value of the average work experience in the conditions of dust loads, leading to the development of occupational diseases with disabilities, has been established.

*Key words: occupational diseases, disability, comparative analysis, correlation analysis, generalized non-linear models.*

Профессиональная заболеваемость наиболее наглядно демонстрирует связь здоровья работников с воздействием неблагоприятных условий труда на их организм [1]. Возникновение каждого случая профессиональной патологии, независимо от этиологии, может происходить только при сложении специфических условий, а именно наличия и достаточной мощности неблагоприятного производственного фактора, длительности его воздействия на организм и восприимчивости организма к этому фактору [2, 3]. В ряде работ, как отечественных, так и зарубежных авторов, приводятся материалы о значительной запыленности воздуха рабочей зоны на заводах первичной обработки льна [4, 5]. В монографиях отечественных авторов описаны профессиональные аллергозы и профессиональные бронхиты, диагностированные у работников льноперерабатывающих предприятий Беларуси [6, 7].

Изучение профессиональной заболеваемости имеет свои специфические особенности, которые, в первую очередь, определяются относительно небольшим количеством таких случаев по сравнению с общей заболеваемостью. С учетом этого анализ, как правило, проводится по абсолютным сравнительно небольшим цифрам, при этом использование многих статистических методов может быть сильно ограничено.

До настоящего времени в доступной литературе отсутствуют данные, основанные на количественном описании связи профессиональной заболеваемости на льноперерабатывающих предприятиях со стажем работы.

Целью исследования явилось выявление особенностей структуры профессиональной заболеваемости на льноперерабатывающих предприятиях и установление влияния стажа работы в неблагоприятных условиях труда на степень постоянной утраты трудоспособности.

## Материал и методы

В нашем исследовании анализ проводился по материалам электронной базы главного специалиста по профпатологии Главного управления по здравоохранению Витебской области,

включающей в себя данные о лицах, состоящих на диспансерном учете с профессиональными заболеваниями. Всего было проанализировано 193 случая профессиональных заболеваний, в том числе 23 на льноперерабатывающих предприятиях области, которые были установлены за период 1986-2020 годы. За весь период наблюдения условия труда на предприятиях, где были зарегистрированы случаи профессиональных заболеваний, существенно не менялись. Случаи, зарегистрированные на предприятиях других областей, из анализа были исключены.

Статистическая обработка полученных результатов проводилась с использованием пакета статистических программ STATISTICA v.10.0 RUS (лицензия STA999K347156W).

В работе использован метод сравнительного анализа с помощью точного критерия Фишера, корреляционный анализ Пирсона, метод обобщенных нелинейных моделей (GLZ).

До начала статистических расчетов было проверено соответствие анализируемых номинальных данных нормальному закону распределения (табл. 1). Полученные данные позволяют использовать параметрические методы исследования.

## Результаты и обсуждение

Структура профессиональных заболеваний по Витебской области и на льноперерабатывающих предприятиях за эти годы представлена в таблице 2. Для удобства сравнения отдельные нозологические формы были объединены по органам и системам организма согласно МКБ-10.

За анализируемый период в целом по области на первое место вышли профессиональные интоксикации и отравления T51-T65 (59 случаев, т.е. 30,9%), что обусловлено спецификой отраслей производства. На втором месте оказались болезни органов дыхания J40-J69 (57 случаев, т.е. 29,8%). На третьем и четвертом местах разместились заболевания кожи L20-L30 (25 случаев, 13,1%) и вибрационная болезнь T75.2 (13 случаев, 6,8%).

На льноперерабатывающих предприятиях



Таблица 1 – Проверка соответствия распределения переменных нормальному закону распределения

Переменные	Критерии оценки	
	Колмогорова-Смирнова	Лиллиефорса
Возраст установления диагноза профзаболевания, годы	0,21621 $p=0,200$	$p<0,200$
Стаж работы, годы	0,09894 $p>0,200$	$p>0,200$
Степень утраты трудоспособности, %	0,17612 $p>0,200$	$P<0,100$

Таблица 2 – Сравнение структур профессиональной заболеваемости на льноперерабатывающих и других предприятиях Витебской области (по данным о числе лиц с профессиональными заболеваниями, установленными за период 1986-2020 годов)

Патологии		Заболевания костно-мышечной и нервной системы (M00-M99)	Нейросенсорная тугоухость (H90)	Туберкулез (A15-A19) и другие инфекции профессиональные	Вибрационная болезнь (T75.2)	Заболевания кожи (L20-L30)	Болезни органов дыхания профессиональные (J40-J69)	Интоксикации (T51-T65)	Прочие
Всего по Витебской области	Абс.	7	10	12	13	25	59	59	8
	Доля, %	3,6	5,2	6,2	6,7	13,0	30,6	30,6	4,1
Льноперерабатывающие предприятия	Абс.	0	3	0	0	3	17	0	0
	Доля, %	0,0	13,05	0,0	0,0	13,05	73,9	0,0	0,0
Другие предприятия области	Абс.	7	7	12	13	22	42	59	8
	Доля, %	4,1	4,1	7,1	7,6	12,9	24,7	34,7	4,7

первое место объяснимо занимают профессиональные болезни органов дыхания (J40-J69) – 17 случаев (73,9%). С профессиональными заболеваниями кожи (L20-L30) и профессиональной нейросенсорной тугоухостью (H90) на учете состоят по 3 человека (по 13,05%).

В качестве метода сравнительного анализа использован точный критерий Фишера [8]. Значение точного двухстороннего критерия Фишера составило 23,789, при статистической значимости  $p=0,01$  и мощности критерия более 0,8. Таким образом, можно уверенно утверждать, что структура профессиональной заболеваемости на льноперерабатывающих предприятиях области статистически значимо отличается от таковой на предприятиях других отраслей.

Профессиональные болезни органов дыхания (J40-J69) на льноперерабатывающих предприятиях представлены бронхиальной астмой (11 случаев) и хроническим бронхитом (8 случаев). В 2 случаях имело место сочетание обеих нозологий. Обращает на себя внимание тот факт, что на протяжении всего периода наблюдений не

было установлено случаев биссиноза, который считается характерным для подобного производства заболеванием [9-11].

В половозрастной структуре профессиональной заболеваемости наблюдается превалирование женщин – 19 человек (82,6%). Превалирование женщин отражает гендерные пропорции работников на предприятиях, а также большую долю женщин, занятых на основном производстве [12].

Из 23 работников с установленным профессиональным заболеванием 15 работникам (65,2%) определена утрата трудоспособности по инвалидности. Из них 9 человек с инвалидностью 3-й степени, у 6 работников установлена инвалидность 2-й степени.

Корреляционный анализ связи степени утраты трудоспособности в процентах (инвалидности) по причине профессионального заболевания от возраста заболевших на момент установления профессионального бронхолегочного заболевания и их среднего стажа работы не выявил статистически значимых зависимостей.



стей. Связь степени утраты трудоспособности от возраста характеризовалась коэффициентом корреляции Пирсона, равного  $r=0,284$ , коэффициент детерминации  $r^2=0,081$  при  $p=0,291$ . Аналогичные показатели для стажа работы составили  $r=0,032$ , коэффициент детерминации  $r^2=0,001$  при  $p=0,904$ .

В то же время анализ указанных показателей раздельно по группам «нет инвалидности», «инвалидность 3-й группы» и «инвалидность 2-й группы» показал наличие следующих особенностей.

Связи степеней утраты трудоспособности от возраста заболевших в группах инвалидности имели вид:

Группа инвалидности: нет инвалидности  $y=34,3049-0,3812 \cdot x$ ;  $r=-0,403$ ;  $r^2=0,162$ ;  $p=0,5017$ .

Группа инвалидности: 3-я группа  $y=-27,5823+1,5918 \cdot x$ ;  $r=0,638$ ;  $r^2=0,407$ ;  $p=0,173$ .

Группа инвалидности: 2-я группа  $y=46,0463+0,3899 \cdot x$ ;  $r=0,711$ ;  $r^2=0,506$ ;  $p=0,113$ .

Связи степеней утраты трудоспособности от стажа работы заболевших в группах инвалидности выглядели еще менее значимо:

Группа инвалидности: нет инвалидности  $y=15,7609+0,0543 \cdot x$ ;  $r=0,07$ ;  $r^2=0,005$ ;  $p=0,912$ .

Группа инвалидности: 3-я группа  $y=2,7287+1,7093 \cdot x$ ;  $r=0,62$ ;  $r^2=0,383$ ;  $p=0,190$ .

Группа инвалидности: 2-я  $y=55,5366+0,4268 \cdot x$ ;  $r=0,57$ ;  $r^2=0,328$ ;  $p=0,235$ .

Учитывая неоднозначные коэффициенты корреляций и коэффициенты регрессий, была предпринята попытка разработать модель зависимости стажа работы на момент установления профессионального бронхолегочного заболевания от степени утраты трудоспособности с учетом возраста на основе обобщенных линейных и нелинейных моделей (GLZ) с разными коэф-

фициентами наклона [13]. Данный анализ является углубленным вариантом ковариационного анализа, в котором в качестве зависимой переменной выступает стаж работы в годах, а независимыми (влияющими) переменными приняты группы инвалидности по степеням (качественная группирующая переменная) и возраст на момент установления профзаболевания в годах (ковариата). Нелинейность связи оценивалась по логарифмической зависимости. Построение модели проводилось методом, учитывающим все эффекты взаимодействия без свободного члена в сверхпараметризованной матрице.

Члены плана построения модели представлены в таблице 3.

Значимость модели оценивалась с помощью статистики Вальда. Как свидетельствуют данные, представленные в таблице 4, полученная модель имеет высокую степень статистической значимости.

Адекватность модельных данных исходным значениям оценивалась визуально на графиках (рис. 1 А, Б), на которых показаны диаграмма рассеивания наблюдаемых значений относительно предсказанных и нормальный вероятностный график остатков. Регрессионные зависимости представлены с 95% и 99% доверительными интервалами.

На рисунке 1 А видно, что зависимость между наблюдаемыми и предсказанными значениями описывается статистически высоко значимой регрессией вида:

$$y=7,581+0,6533 \cdot x; r=0,8026; p=0,0001; r^2=0,6441,$$

где:

$x$  – наблюдаемые значения;

$y$  – предсказанные значения.

На рисунке 1 Б показано согласование полученных исходных регрессионных остатков со

Таблица 3 – Члены плана общего нелинейного анализа (GLZ) зависимости стажа работы от степени утраты трудоспособности (по группам инвалидности) с учетом возраста установления диагноза

Метка	Метки столбцов матрицы плана X			
	Столбец	Переменные	Уровни переменных	Ковариата
Группа инвалидности×возраст, лет	1	Группа инвалидности	нет инвалидности	Возраст, лет
Группа инвалидности×возраст, лет	2	Группа инвалидности	3-я группа	Возраст, лет
Группа инвалидности×возраст, лет	3	Группа инвалидности	2-я группа	Возраст, лет
Группа инвалидности	4	Группа инвалидности	нет инвалидности	
Группа инвалидности	5	Группа инвалидности	3-я группа	
Группа инвалидности	6	Группа инвалидности	2-я группа	

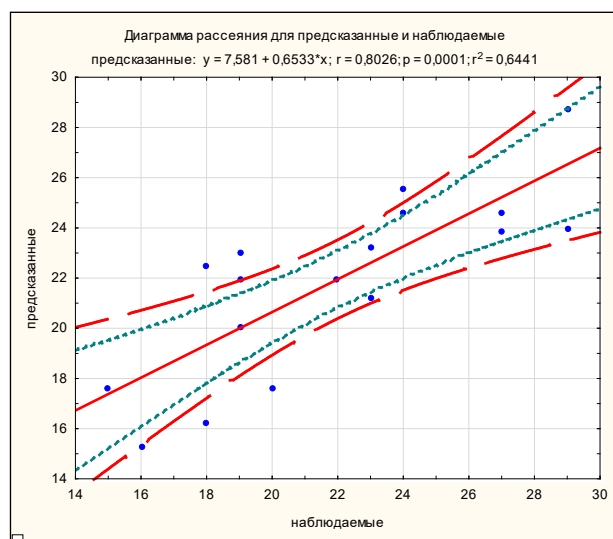
Таблица 4 – Статистическая значимость модели GLZ зависимости стажа работы от степени утраты трудоспособности (по группам инвалидности) с учетом возраста установления диагноза

Эффект	Стаж, лет работы – Критерий всех эффектов Распределение: нормальное. Функция связи: логарифмическая		
	Степени свободы	Статистика Вальда	p
1×2	3	26,230	<0,001
Группа инвалидности	2	18,450	<0,001

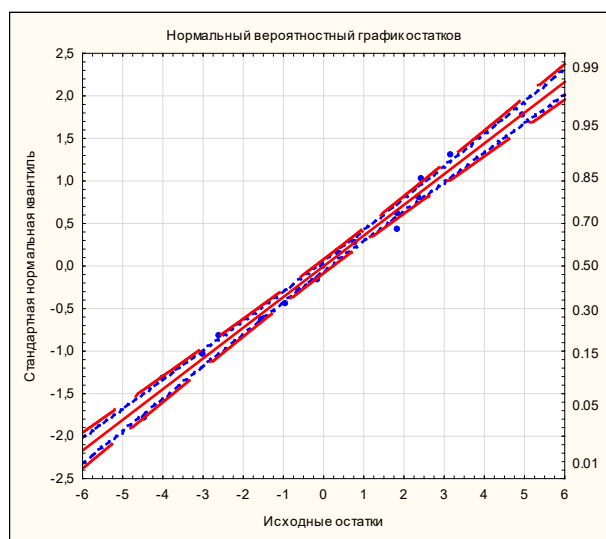
Таблица 5 – Итоговые оценки коэффициентов регрессии при независимых переменных в модели

Эффект	Уровень эффекта	Столбец (члены плана)	Оценка	Станд. ошибка	Вальда статистика	Нижн. 95, %	Верх. 95, %	p
1×2	1	1	0,0439	0,0132	11,066	0,0181	0,0698	0,0009
1×2	2	2	0,0371	0,0124	8,937	0,0128	0,0614	0,0028
1×2	3	3	0,0298	0,0119	6,226	0,0064	0,0532	0,0126
Группа инвалид.	нет инвалид.	4	1,1144	0,6199	3,231	-0,1006	2,3294	0,0722
Группа инвалид.	3-я гр.	5	1,4959	0,5463	7,498	0,4252	2,5666	0,0062
Группа инвалид.	2-я гр.	6	1,6229	0,5822	7,770	0,4818	2,7640	0,0053
Масштаб			2,5306	0,4340		1,8082		

Примечание: итоговые коэффициенты регрессии по каждому уровню влияния записаны в графе «оценка».



А



Б

Рисунок 1 – Визуальный анализ адекватности модели по регрессии наблюдаемых значений от предсказанных (А) и график нормальных вероятностей остатков (Б).

стандартными нормальными квантилями. Следует отметить, что из 17 только 3 значения лежат за пределами 99,0% интервала, что составляет 82,4% согласия. Итоговые результаты оценки модели представлены в таблице 5.

Представленные данные характеризуют полученную модель как адекватную и хорошо согласованную с исходными значениями. Это по-

зволило провести расчеты стажевых нагрузок в годах до установления профессионального заболевания по причине бронхолегочной патологии в разных группах инвалидности и без нее (рис. 2, табл. 6).

Расчет проводился на ковариату «возраст установления диагноза профессионального заболевания», равный 45,1 года (ДИ095 42,5÷47,7).

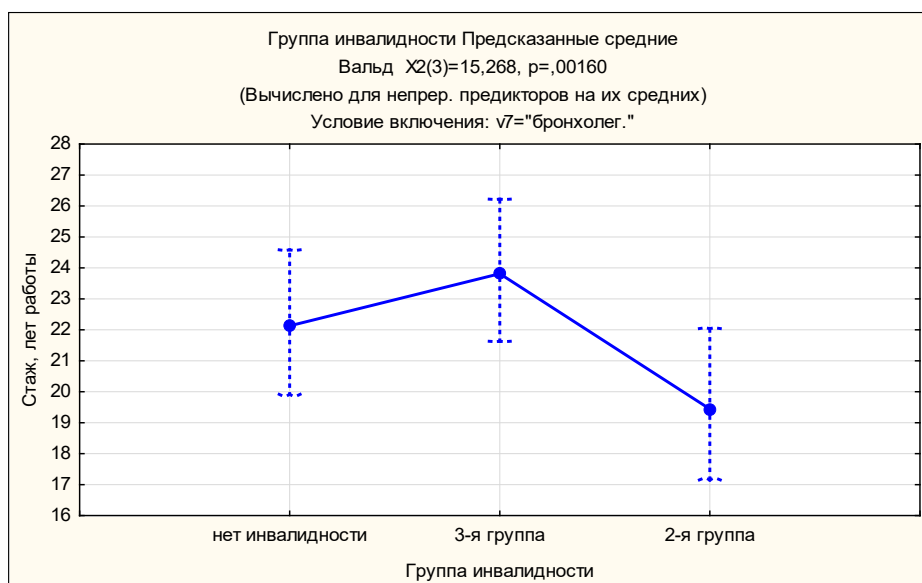


Рисунок 2 – Предсказанные средние значения стажа работы во вредных условиях до установления профессионального заболевания по причине бронхолегочной патологии в разных группах инвалидности: доверительный интервал средних значений рассчитан по стандартной ошибке.

Таблица 6 – Предсказанные средние значения стажа работы во вредных условиях до установления профессионального заболевания по причине бронхолегочной патологии в разных группах инвалидности

Ячейка	Группа инвалидности. Предсказанные средние. Вальд $\chi^2(3)=15,268, p=0,00160$ (вычислено для непрерывных предикторов на их средних). Условие включения: v7=«бронхолегочная патология»					
	Группа инвалидности	Стаж, лет работы Среднее	Стаж, лет работы Ст. ош.	Стаж, лет работы -95,00	Стаж, лет работы +95,00	N
1	нет инвалидности	22,1	0,05	19,9	24,6	5
2	3-я группа	23,8	0,05	21,6	26,2	6
3	2-я группа	19,4	0,06	17,2	22,0	6

Данное значение не только имеет статистическое обоснование, поскольку является математическим ожиданием по всем случаям наблюдения в группе с бронхолегочной патологией, но и хорошо объясняется данными эпидемиологического наблюдения за льноперерабатывающими предприятиями области. Средний возраст начала трудовой деятельности на них колеблется около 22-26 лет. Таким образом, вполне понятно, что лица в возрасте значительно моложе 40 лет и имеющие сколь-нибудь значимый профессиональный стаж работы в неблагоприятных условиях встречаются не так уж часто.

Расчетным путем было установлено, что наименьший стаж работы в условиях профессиональной вредности до установления диагноза профессионального заболевания имел место у

работников, которым одновременно с этим была установлена постоянная утрата трудоспособности со 2-й группой инвалидности. Средний расчетный стаж в этой группе наблюдения составил 19,4 года (ДИ095 17,2÷22,0). Минимальное значение доверительного интервала (17,2 года) с учетом так называемого донозологического лага при хронической бронхолегочной патологии послужило обоснованием утверждения, что лицам, в возрасте старше 40 и имеющим рабочий стаж в условиях загрязнения воздуха рабочей зоны распылительной пылью более 15 лет, необходимо проводить дополнительные исследования в рамках внеочередного осмотра. Ранее нами было показано, что работающие на основном производстве предъявляют жалобы статистически значимо больше по сравнению с работниками вспомога-

тельного производства и управления комбинатом после 14 лет работы [14].

Описанный подход позволит более эффективно выявлять лиц с начальными донозологическими проявлениями бронхолегочной патологии и своевременно начинать ее вторичную профилактику.

Стаж работы во вредных условиях в двух других группах наблюдения (без инвалидности и с 3-й группой инвалидности) между собой статистически не различался ( $p > 0,560$ ), но был значительно больше по сравнению со 2-й группой инвалидности ( $p = 0,034$ ).

## Заключение

Представленные материалы исследования позволяют утверждать, что структура профессиональной патологии на льноперерабатывающих предприятиях области имеет свою специфику, проявляющуюся главенствующей долей патологии со стороны органов дыхания. Выявленные особенности в структуре профессиональной заболеваемости работников льноперерабатывающих предприятий Витебской области находятся в непосредственной связи с условиями труда.

Установление расчетного минимального значения среднего стажа работы в условиях пылевых нагрузок может являться обоснованием для разработки научно обоснованных рекомендаций к проведению дополнительного обследования в рамках внеочередного медицинского осмотра указанных лиц в оптимальные сроки.

## Литература

1. Измеров, Н. Ф. Охрана здоровья рабочих и профилактика профессиональных заболеваний на современном этапе / Н. Ф. Измеров // Медицина труда и пром. экология. – 2002. – № 1. – С. 1–7.
2. Состояние условий труда работников агропромыш-

ленного комплекса Беларуси / Г. Е. Косяченко [и др.] // Здоровье и окружающая среда : сб. науч. тр. / Респ. науч.-практ. центр гигиены. – Минск, 2016. – Вып. 26. – С. 182–185.

3. Современная актуарная теория риска / Р. Каас [и др.] ; пер. с англ. А. А. Новоселова ; под ред. В. К. Малиновского. – Москва : Янус-К, 2007. – 372 с.
4. Мисун, Л. В. Исследование процесса пылевого загрязнения воздушной среды производственных помещений льноперерабатывающих предприятий / Л. В. Мисун, Т. В. Севастюк, А. П. Утенков // Механизация и электрификация сельского хозяйства : межведомств. темат. сб. – Минск, 2016. – С. 123–128.
5. Dust Diseases in Dundee Textile Workers: An Investigation into Chronic Respiratory Disease in Jute and Flax Industries / A. Mair [et al.] // Br. J. Ind. Med. – 1960 Oct. – Vol. 17, N 4. – P. 272–278.
6. Скепьян, Н. А. Аллергические болезни: дифференциальный диагноз, лечение / Н. А. Скепьян. – Минск : Беларусь, 2000. – 287 с.
7. Федорович, С. В. Профессиональный бронхит / С. В. Федорович, С. М. Соколов, Н. А. Скепьян. – Барановичи : РУП «Баранов. укрупн. тип.», 2004. – 277 с.
8. Боровиков, В. П. STATISTICA: искусство анализа данных на компьютере. Для профессионалов / В. П. Боровиков. – Санкт-Петербург : Питер, 2001. – 656 с.
9. A study of respiratory function among the workers engaged in ginning processes / A. Saha [et al.] // Ind. J. Occup. Environ. Med. – 2014 Sep-Dec. – Vol. 18, N 3. – P. 118–121.
10. An investigation of allergy in byssinosis: Sensitization to cotton, hemp, flax and jute antigen / V. Popa [et al.] // Br. J. Ind. Med. – 1969 Apr. – Vol. 26, N 2. – P. 101–108.
11. Byssinosis in Hong Kong / S. G. Ong [et al.] // Br. J. Ind. Med. – 1985 Jul. – Vol. 42, N 7. – P. 499–502.
12. Омонова, Х. Р. Заболеваемость женщин, работающих на промышленных предприятиях / Х. Р. Омонова // Сборники конференций НИЦ Социосфера. – 2017. – № 23. – С. 37–39.
13. Green, P. J. Nonparametric Regression and Generalized Linear Models: A roughness penalty approach / P. J. Green, B. W. Silverman. – New York, 1993. – 184 p.
14. Ефремова, Л. А. Аналитическая составляющая самооценки качества здоровья работниками РУПТП «Оршанский льнокомбинат» / Л. А. Ефремова, В. С. Глушанко, Г. Д. Коробов // Вопросы организации и информатизации здравоохранения. – 2017. – № 3. – С. 72–79.

Поступила 29.12.2020 г.

Принята в печать 15.02.2021 г.

## References

1. Izmerov NF. Protection of workers' health and prevention of occupational diseases at the present stage. Meditsina Truda Prom Ekologiya. 2002;(1):1-7. (In Russ.)
2. Kosiachenko GE, Iakovlev SE, Tishkevich GI, Ivanovich EA, Nikolaeva EA, Rakevich AV. The state of working conditions of workers in the agro-industrial complex of Belarus. V: Resp nauch-prakt tsentr gigieny. Zdorov'e i okruzhaiushchaia sreda: sb nauch tr. Minsk, RB; 2016. Vyp 26. P. 182-5. (In Russ.)

3. Kaas R, Guverts M, Dene Zh, Denut M, Novoselov AA, per, Malinovskii VK, red. Contemporary actuarial risk theory. Moscow, RF: Ianus-K; 2007. 372 p.
4. Misun LV, Sevastiuk TV, Utenkov AP. Investigation of the process of dust pollution of the air environment of the production premises of flax processing enterprises. V: Mekhanizatsiia i elektrifikatsiia sel'skogo khoziaistva: mezhvedomstv temat sb. Minsk, RB; 2016. P. 123-8. (In Russ.)
5. Mair A, Smith DH, Wilson WA, Lockhart W. Dust Diseases in Dundee Textile Workers: An Investigation into Chronic

- Respiratory Disease in Jute and Flax Industries. Br J Ind Med. 1960 Oct;17(4):272-8. doi: 10.1136/oem.17.4.272
6. Skepian NA. Allergic diseases: differential diagnosis, treatment. Minsk, RB: Belarus'; 2000. 287 p. (In Russ.)
7. Fedorovich SV, Sokolov SM, Skepian NA. Professional bronchitis. Baranovich, RB: RUP Baranov ukrupn tip; 2004. 277 p. (In Russ.)
8. Borovikov VP. STATISTICA: the art of analyzing data on a computer. For professionals. Saint Petersburg, RF: Piter; 2001. 656 p. (In Russ.)
9. Saha A, Doctor PB, Bhagia LJ, Majumdar PK, Patel BD. A study of respiratory function among the workers engaged in ginning processes. Indian J Occup Environ Med. 2014 Sep-Dec;18(3):118-21. doi: 10.4103/0019-5278.146908
10. Popa V, Gavrilescu N, Preda N, Teculescu D, Plecias M, Cirstea M. An investigation of allergy in byssinosis: Sensitization to cotton, hemp, flax and jute antigen. Br J Ind Med. 1969 Apr;26(2):101-8. doi: 10.1136/oem.26.2.101
11. Ong SG, Lam TH, Wong CM, Ma PL, Lam SK, O'Kelly FJ. Byssinosis in Hong Kong. Br J Ind Med. 1985 Jul;42(7):499-502. doi: 10.1136/oem.42.7.499
12. Omonova KhR. Morbidity of women working in industrial enterprises. Sborniki konferentsii NITs Sotsiosfera. 2017;(23):37-9. (In Russ.)
13. Green PJ, Silverman BW. Nonparametric Regression and Generalized Linear Models: A roughness penalty approach. New York, USA; 1993. 184 p.
14. Efremova LA, Glushanko VS, Korobov GD. The analytical component of the self-assessment of the quality of health by employees of the RUPTP «Orsha Flax Mill». Voprosy Organizatsii Informatizatsii Zdravookhraneniia. 2017;(3):72-9. (In Russ.)

Submitted 29.12.2020

Accepted 15.02.2021

#### Сведения об авторах:

Ефремова Л.А. – старший преподаватель кафедры пропедевтики внутренних болезней, Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет,

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0385-5798>;

Коробов Г.Д. – к.м.н., доцент учебного центра практической подготовки и симуляционного обучения, Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет,

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6878-7573>;

Глушанко В.С. – д.м.н., профессор, заведующий кафедрой общественного здоровья и здравоохранения с курсом ФПК и ПК, Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет,

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1404-4683>.

#### Information about authors:

Yefremova L.A. – senior lecturer of the Chair of Internal Diseases Propedeutics, Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University,

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0385-5798>;

Korobov G.D. – Candidate of Medical Sciences, associate professor of the Educational Centre of Practical Training and Simulation Teaching, Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6878-7573>;

Glushanko V.S. – Doctor of Medical Sciences, professor, head of the Chair of Public Health & Health Service with the course of the Faculty for Advanced Training & Retraining, Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University,

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1404-4683>.

**Адрес для корреспонденции:** Республика Беларусь, 210009, г. Витебск, пр. Фрунзе, 27, Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет, кафедра пропедевтики внутренних болезней. E-mail: [elasam@mail.ru](mailto:elasam@mail.ru) – Ефремова Лариса Анатольевна.

**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: [elasam@mail.ru](mailto:elasam@mail.ru) – Larisa A. Yefremova.

## ХИМИЧЕСКИЙ СПОСОБ УТИЛИЗАЦИИ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИХ ОТХОДОВ ГРУППЫ ИНГИБИТОРОВ АНГИОТЕНЗИНПРЕВРАЩАЮЩЕГО ФЕРМЕНТА

АВСЕЙКО М.В., ЯРАНЦЕВА Н.Д.

Белорусский государственный медицинский университет, г. Минск, Республика Беларусь

Вестник ВГМУ. – 2021. – Том 20, №1. – С. 99-110.

## CHEMICAL METHOD FOR DISPOSAL OF PHARMACEUTICAL WASTE OF ANGIOTENSIN-CONVERTING-ENZYME INHIBITOR GROUP

AVSEIKO M.V., YARANTSEVA N.D.

Belarusian State Medical University, Minsk, Republic of Belarus

Vestnik VGMU. 2021;20(1):99-110.

---

### Резюме.

Цель исследования – разработка способа химического обезвреживания фармацевтических отходов, а также оценка его эффективности и экологической безопасности.

Материал и методы. В качестве образцов для апробации предлагаемого способа утилизации были использованы субстанции каптоприла, лизиноприла, эналаприла, периндоприла и рамиприла. Проведена химическая инактивация фармакофоров лекарственных средств. Экспериментально установлена структура полученных в ходе разрушения продуктов, а также доказана эффективность обезвреживания отходов методом спектроскопии гигантского комбинационного рассеяния. Токсичность исходных соединений, а также структур, полученных в ходе разрушения, определялась на основании расчета полулетальной дозы ( $LD_{50}$ ) для крыс при пероральном применении с использованием пакета программ для компьютерного моделирования GUSAR Rat acute toxicity. Расчет коэффициента распределения в системе октанол-вода ( $\log P_{ow}$ ) для анализируемых веществ был осуществлён с использованием программы Molinspiration.

Результаты. После проведения реакций деструкции анализируемых субстанций на спектрах отсутствовали пики на частотах, характерных для функциональных групп, влияющих на фармакологическую активность, что подтверждает эффективность химического способа утилизации лекарственных средств. Экотоксикологические характеристики, такие как значение полулетальной дозы и коэффициент распределения в системе октанол-вода, продуктов деградации также имеют более благоприятные значения в сравнении с исходными веществами.

Заключение. Доказана возможность применения химического способа для утилизации фармацевтических отходов группы лекарственных средств, ингибирующих ангиотензинпревращающий фермент.

Ключевые слова: *фармацевтические отходы, утилизация, экологическая безопасность, каптоприл, лизиноприл, эналаприл, периндоприл, рамиприл.*

### Abstract.

Objectives. To develop a method for chemical neutralization of pharmaceutical waste, as well as to assess its effectiveness and environmental safety.

Material and methods. The substances of captopril, lisinopril, enalapril, perindopril and ramipril were used as samples for testing the proposed disposal method. The chemical inactivation of drugs pharmacophores was carried out. The structure of the products obtained in the course of destruction has been established experimentally, and the efficiency of waste neutralization has been proved by the instrumental method of analysis – giant Raman spectroscopy. The toxicity of the initial compounds, as well as the structures obtained during destruction was determined based on the calculation of the semi-lethal dose ( $LD_{50}$ ) for rats on oral administration using the GUSAR Rat acute toxicity computer simulation software package. The calculation of the partition coefficient in the octanol-water system ( $\log P_{ow}$ ) for the analyzed substances was

carried out using the Molinspiration program.

Results. After carrying out the destruction reactions of the analyzed substances, there were no peaks in the spectra at frequencies characteristic of the carboxyl group, which confirms the effectiveness of the chemical method for disposing drugs. Ecotoxicological characteristics, such as the value of the semi-lethal dose and the partition coefficient in the octanol-water system, of degradation products also have more favorable values in comparison with the initial substances. Conclusions. The possibility to use the chemical method for the disposal of pharmaceutical waste of the drugs group inhibiting angiotensin-converting-enzyme has been proved.

Key words: *pharmaceutical waste, disposal, environmental safety, captopril, lisinopril, enalapril, perindopril, ramipril.*

Сердечно-сосудистые заболевания – одна из наиболее значимых причин смертности и инвалидизации взрослого населения в мире. Вопросам профилактики и лечения данной группы заболеваний посвящены многочисленные научные исследования. Так, согласно «Всемирному атласу профилактики сердечно-сосудистых заболеваний», для вторичной профилактики сердечно-сосудистых заболеваний, под которой понимают профилактику рецидивов и осложнений у лиц с уже установленным диагнозом, рекомендовано применение ацетилсалициловой кислоты, бета-блокаторов, ингибиторов ангиотензинпревращающего фермента (АПФ) и гиполипидемических средств. При этом установлено, что применение каждого из препаратов данной схемы уменьшает риск возникновения повторных эпизодов сердечно-сосудистых заболеваний на 25%, в том числе у пациентов с сопутствующими патологиями [1]. Вышеизложенная информация объясняет широкий ассортимент средств для лечения сердечно-сосудистых заболеваний на мировом рынке. При этом среди лекарственных средств, применяемых для профилактики сердечно-сосудистых заболеваний, наибольший интерес с точки зрения экологической опасности и объемов образуемых фармацевтических отходов представляют ингибиторы ангиотензинпревращающего фермента, многие из которых отпускаются из аптеки без рецепта врача [2]. Установлено, что лекарственные средства именно этой фармакологической группы (особенно лизиноприл) обладают негативным экотоксикологическим воздействием на водные организмы в концентрациях, определяемых в поверхностных водах большинства европейских стран [3].

Целью настоящего исследования является разработка химического способа утилизации фармацевтических отходов лекарственных средств группы ингибиторов ангиотензинпревращающе-

го фермента. Используемый в настоящее время в Республике Беларусь метод обезвреживания фармацевтических отходов (пиролиз) сопровождается образованием диоксинов, способных вызывать ряд заболеваний, в том числе онкологических и иммунодефицитных, а установки для сжигания имеют высокую стоимость эксплуатации. Предлагаемый химический способ утилизации обеспечивает эффективность обезвреживания, экологическую безопасность и экономически выгоден.

## Материал и методы

В качестве образцов для апробации способа химической утилизации фармацевтических отходов были использованы субстанции таких лекарственных средств (ЛС), обладающих способностью ингибировать ангиотензинпревращающий фермент, как каптоприл, лизиноприл, эналаприл, периндоприл и рамиприл.

Согласно экологической классификации лекарственных средств, рассматриваемые субстанции характеризуются высокой экологической опасностью. Экологическая опасность определяется как совокупность неблагоприятных для окружающей среды свойств, присущих веществу, каждое из которых оценивается числовым коэффициентом от 0 до 3. Стойкость (persistence) – способность противостоять разрушению в водной среде (в диапазоне от «0 – легко разрушается» до «3 – медленно разрушается или является потенциально стойким»). Биоаккумуляция (bioaccumulation) – способность накапливаться в органах и тканях живых организмов (в диапазоне от «0 – не подвержен биоаккумуляции» до «3 – обладает возможностью к биоаккумуляции»). Токсичность (toxicity) – способность лекарственных средств при попадании в живой организм поражать органы или приводить к его гибели (0 –

низкая токсичность; 1 – умеренная токсичность; 2 – высокая токсичность; 3 – очень высокая токсичность). Экологическая опасность численно оценивается индексом РВТ, который рассчитывается как общая сумма числовых показателей стойкости (Р), биоаккумуляции (В) и токсичности (Т) и, соответственно, может принимать значение в интервале от 0 до 9. Так, для рамиприла значение индекса РВТ составляет 6, для каптоприла 4, для эналаприла и лизиноприла 3, то есть исследуемые вещества медленно разрушаются и являются потенциально стойкими в окружающей среде, а также способны аккумулироваться в биологических системах [3].

Структура фармакофора ингибиторов ангиотензинпревращающего фермента (АПФ) представлена на рисунке 1 [4].

Необходимо отметить, что молекулы изученных лекарственных веществ имеют в составе следующие обязательные составляющие:

– группа X может быть представлена тиолами ( $\text{HS-CH}_2$ ), карбоксилатами

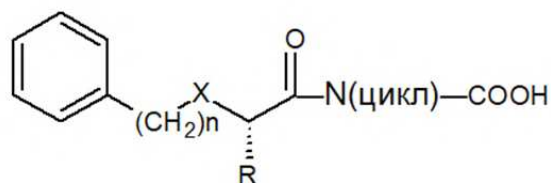


Рисунок 1 – Структура фармакофора ингибиторов АПФ.

( $-\text{CH}(\text{COOH})-\text{NH}-$ ), фосфинатами ( $\text{O}=\text{P}(\text{OH})=$ ), необходима для связывания  $\text{Zn}^{2+}$  активного центра ангиотензинпревращающего фермента;

– в качестве радикала R могут присутствовать дополнительные гидрофобные циклы, влияющие на фармакокинетику и увеличивающие активность лекарственного средства;

– N-содержащий цикл, содержащий карбоксильную группу.

Примеры циклов отмечены на рисунке 2.

Нами предложен комплексный химический способ утилизации фармацевтических отходов лекарственных средств, основанный на дифференцированном использовании различных химических реакций в зависимости от строения фармакофора активной молекулы лекарственного вещества.

Поскольку АПФ является металлопротеиназой цинка, в основе взаимодействия ангиотензинпревращающего фермента и его ингибиторов лежит реакция образования хелатных комплексов  $\text{Zn}^{2+}$ , непосредственно участвующих в катализе гидролиза пептидов. При этом существенный вклад в связывание катионов металла вносит карбоксильная группа [5, 6]. Продукты разрушения ингибиторов АПФ, получаемые в результате проведения утилизации предлагаемым способом, не должны содержать функциональных групп, способных вступать в реакции комплексообразования.

Экспериментально выбран способ инактивации фармакофора образцов субстанций ЛС из группы ингибиторов ангиотензинпревращающе-

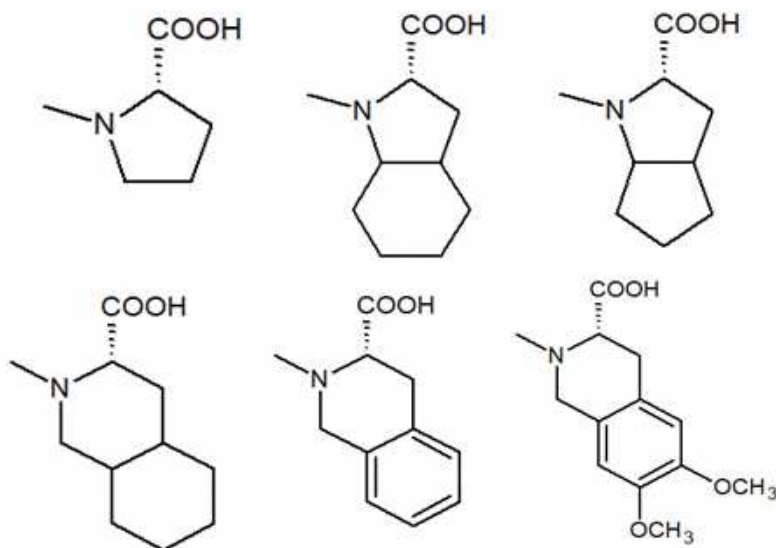


Рисунок 2 – N-содержащие циклы в структуре фармакофора ингибиторов АПФ.



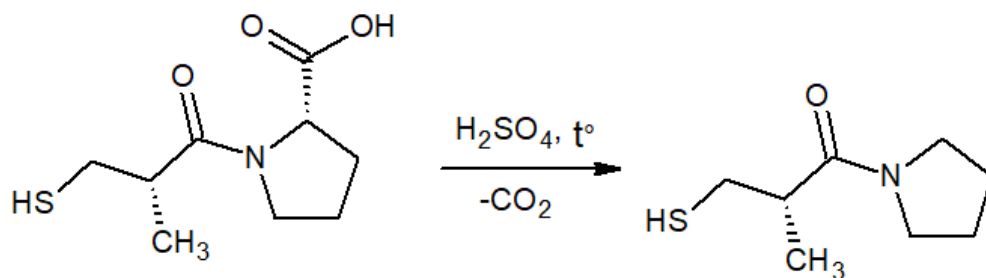


Рисунок 3 – Инактивация фармакофора каптоприла.

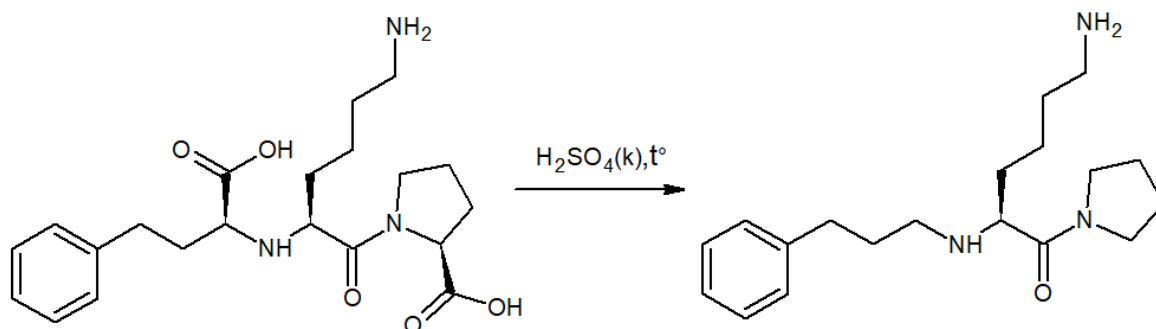


Рисунок 4 – Получение продукта деградации лизиноприла.

го фермента, основанный на реакции декарбоксилирования 50% раствором  $H_2SO_4$  с нагреванием до  $100^\circ C$ .

**Методика А** (для каптоприла или лизиноприла): в колбу из термостабильного стекла помещали 10,0 мг субстанции, отвешенной на аналитических весах Ohaus EX124, затем добавляли 20,0 мл 50% серной кислоты и нагревали на электроплитке при  $100^\circ C$  в течение 10 мин.

Реакции деградации каптоприла и лизиноприла приведены на рисунках 3 и 4 соответственно.

С учетом структуры для инактивации пролекарств (эналаприл, периндоприл, рамиприл) предварительно проводили гидролиз сложного эфира. Предварительный гидролиз сложного эфира пролекарств ингибиторов АПФ требует большего количества серной кислоты и длительности процесса нагревания [7, 8].

**Методика Б** (для эналаприла, периндоприла или рамиприла): в колбу из термостабильного стекла помещали 10,0 мг субстанции эналаприла, периндоприла или рамиприла, отвешенной на аналитических весах Ohaus EX124, добавляли 30,0 мл 50% серной кислоты и нагревали на электроплитке при  $100^\circ C$  в течение 15 мин.

Реакции деградации эналаприла, периндоприла или рамиприла отражены на рисунках 5, 6, 7.

Установление химической структуры ве-

ществ, полученных в результате инактивации, а также оценку полноты обезвреживания фармацевтических отходов лекарственных средств группы ингибиторов ангиотензинпревращающего фермента осуществляли с использованием метода спектроскопии гигантского комбинационного рассеяния (ГКР) исходных и разрушенных по описанным методикам образцов субстанций. Измерения проводили на 3D-сканирующем конфокальном рамановском микроскопе Confotec NR500. Использовалась длина волны возбуждающего излучения 633 нм. В качестве подложек были использованы BelSERS на основе наноструктур серебра и пористого кремния, изготовленные путём электрохимического травления пластин монокристаллического кремния с последующим химическим контактно-обменным осаждением серебра из водного раствора нитрата серебра [9].

Экологическую безопасность соединений, полученных после обезвреживания фармацевтических отходов лекарственных средств группы ингибиторов ангиотензинпревращающего фермента по предложенному способу, устанавливали путем определения токсичности исходных соединений, а также структур, полученных в ходе разрушения, на основании установления полулетальной дозы ( $LD_{50}$ ) для крыс при пероральном

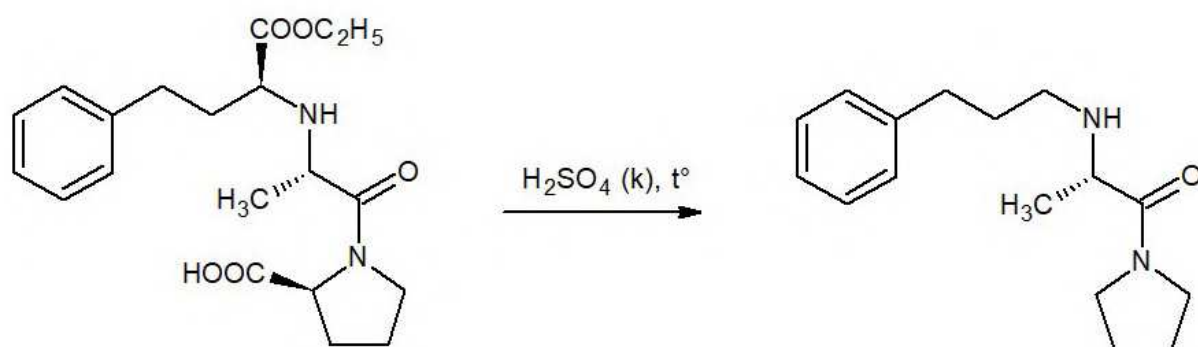


Рисунок 5 – Инактивация фармакофора эналаприла.

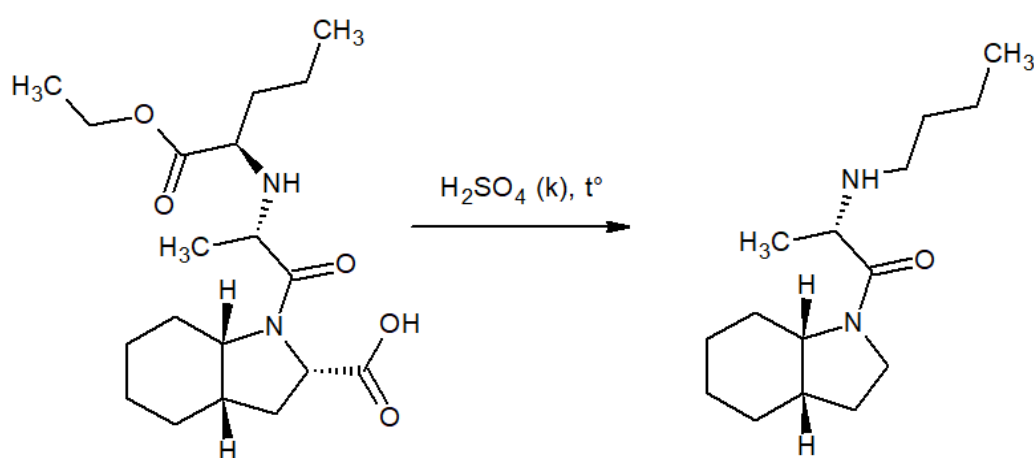


Рисунок 6 – Инактивация фармакофора периндоприла.

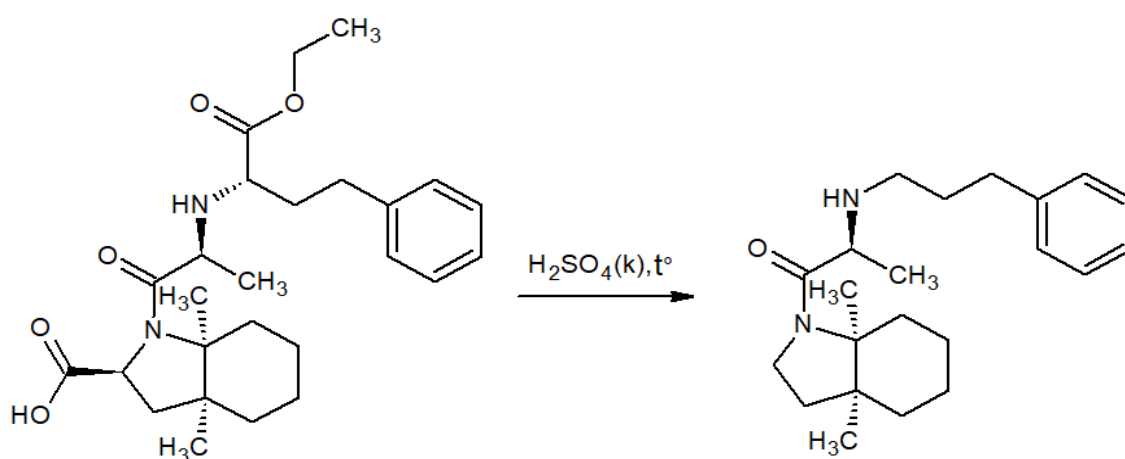


Рисунок 7 – Реакция химической деградации рамиприла.

применении с использованием пакета программ для компьютерного моделирования GUSAR Rat acute toxicity [10].

Для веществ органической природы установлена корреляция между коэффициентом рас-

пределения в системе октанол-вода и способностью к накоплению в организмах гидробионтов [11]. Таким образом, коэффициент распределения может применяться в качестве основного параметра при оценке экотоксикологических рисков хи-

мических веществ для окружающей среды. Дополнительно был проведен расчет коэффициента распределения в системе октанол-вода ( $\log P_{ow}$ ) для анализируемых веществ с использованием программы Molinspiration [12].

## Результаты

Спектр гигантского комбинационного рассеяния исходного образца субстанции каптоприла характеризовался максимумами пиков при следующих 6 частотах: 205  $\text{см}^{-1}$ , 428  $\text{см}^{-1}$ , 596  $\text{см}^{-1}$ , 803  $\text{см}^{-1}$ , 1093  $\text{см}^{-1}$ , 2573,68  $\text{см}^{-1}$  (рис. 8).

На спектре образца разрушенной субстанции каптоприла (рис. 9) не выявлены характеристические для карбоксильной группы, являющейся основной в механизме действия препаратов

данной фармакологической группы, пики при 1093  $\text{см}^{-1}$  и 2573,68  $\text{см}^{-1}$ , обладающие наибольшей интенсивностью [13]. Некоторое незначительное отклонение получаемых результатов со значениями, приводимыми в справочных материалах для нормальных спектров комбинационного рассеяния, объясняется взаимодействием карбоксильной группы определяемого вещества с металлом подложки, механизм такого взаимодействия полностью не изучен, но предполагаются ионные и координационные взаимодействия [14].

На поверхностно-усиленном рамановском спектре исходного образца субстанции эналаприла были зафиксированы максимумы 5 пиков при следующих частотах: 223  $\text{см}^{-1}$ , 437  $\text{см}^{-1}$ , 598  $\text{см}^{-1}$ , 1046  $\text{см}^{-1}$ , 2601  $\text{см}^{-1}$  (рис. 10).

В то же время на спектре образца инактив-

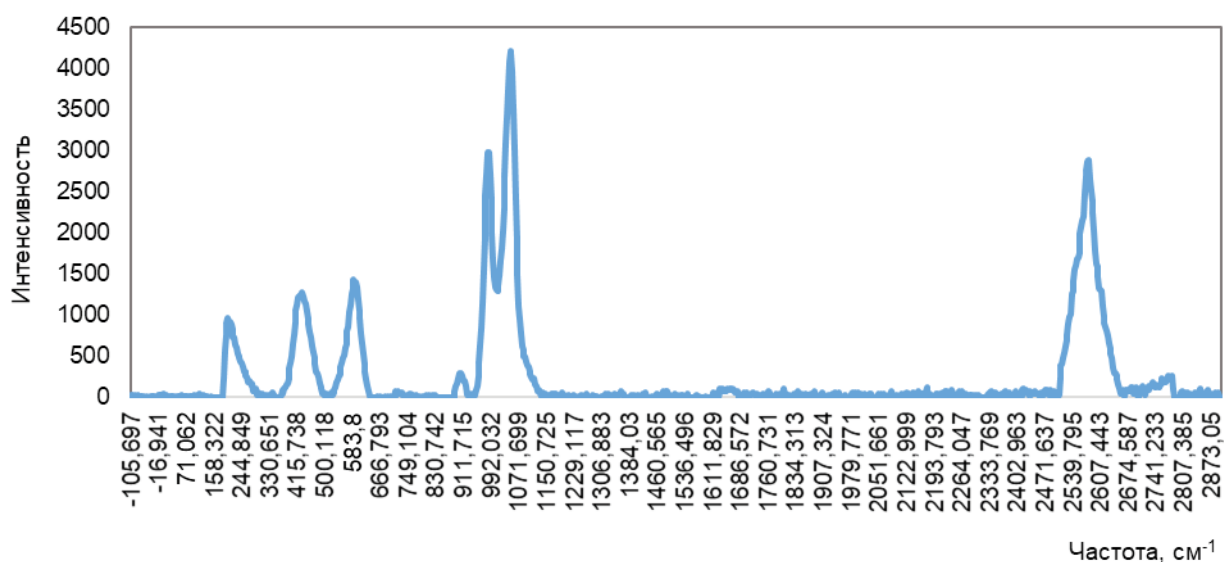


Рисунок 8 – Спектр гигантского комбинационного рассеяния исходного образца субстанции каптоприла.

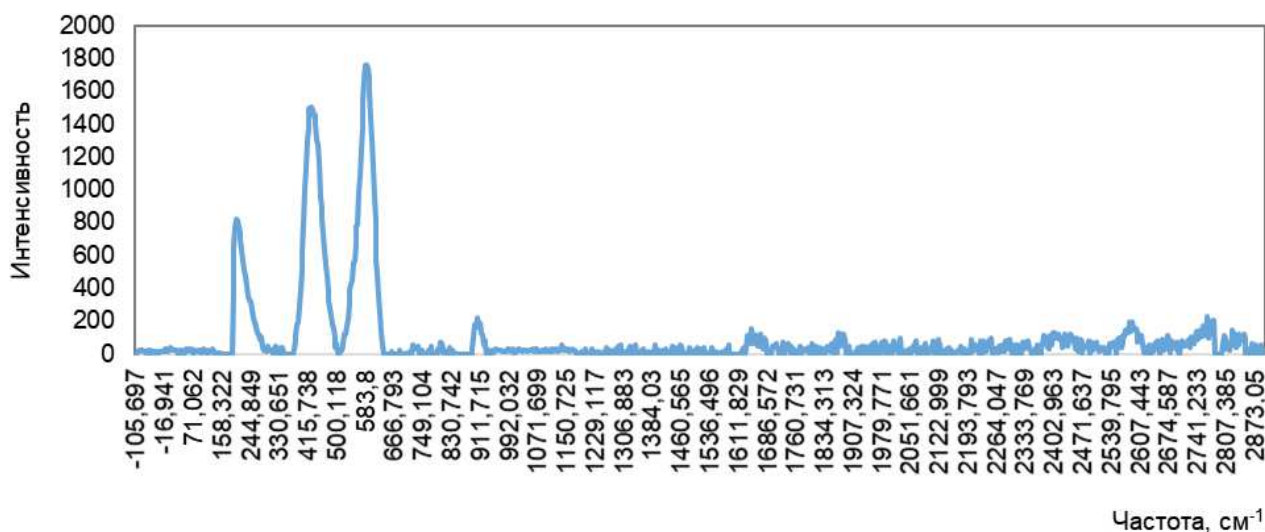


Рисунок 9 – Спектр гигантского комбинационного рассеяния инактивированного образца субстанции каптоприла.

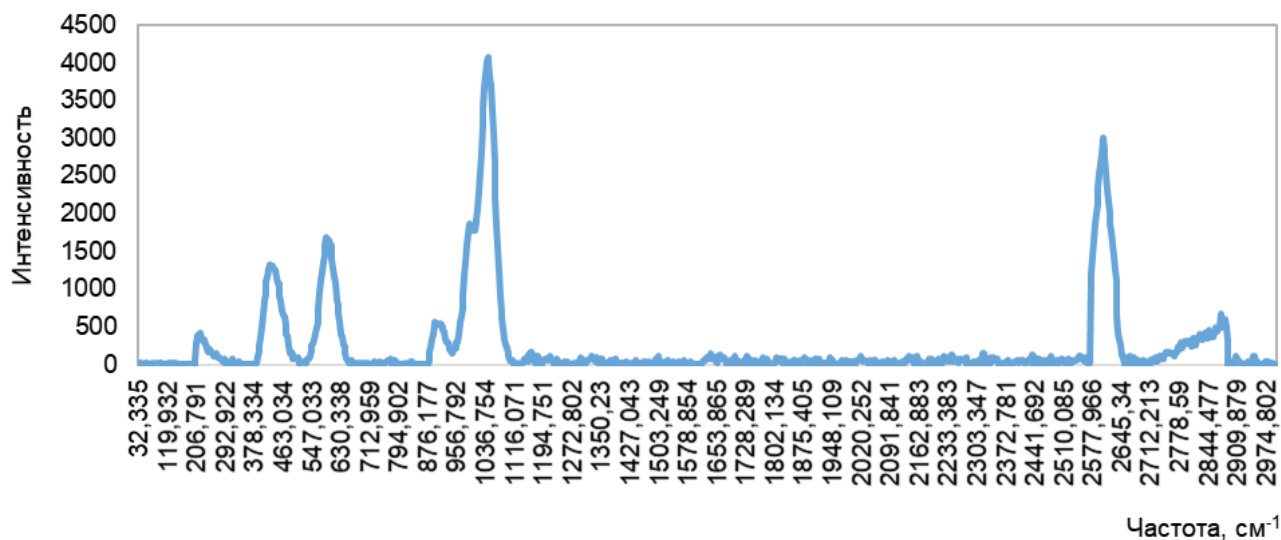


Рисунок 10 – Спектр гигантского комбинационного рассеяния исходного образца субстанции эналаприла.

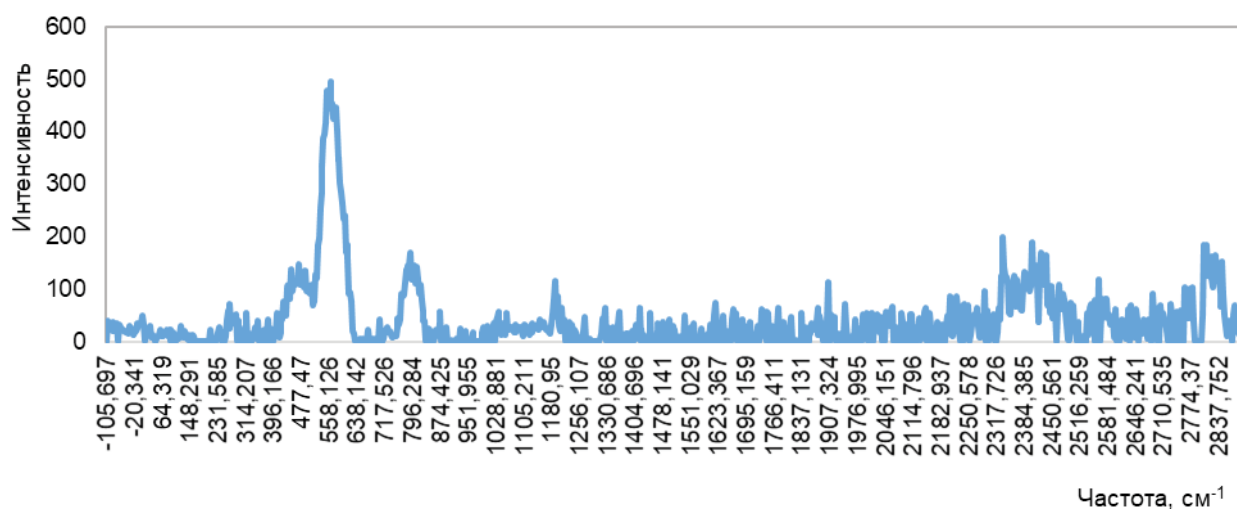


Рисунок 11 – Поверхностно-усиленный спектр инактивированного образца субстанции эналаприла.

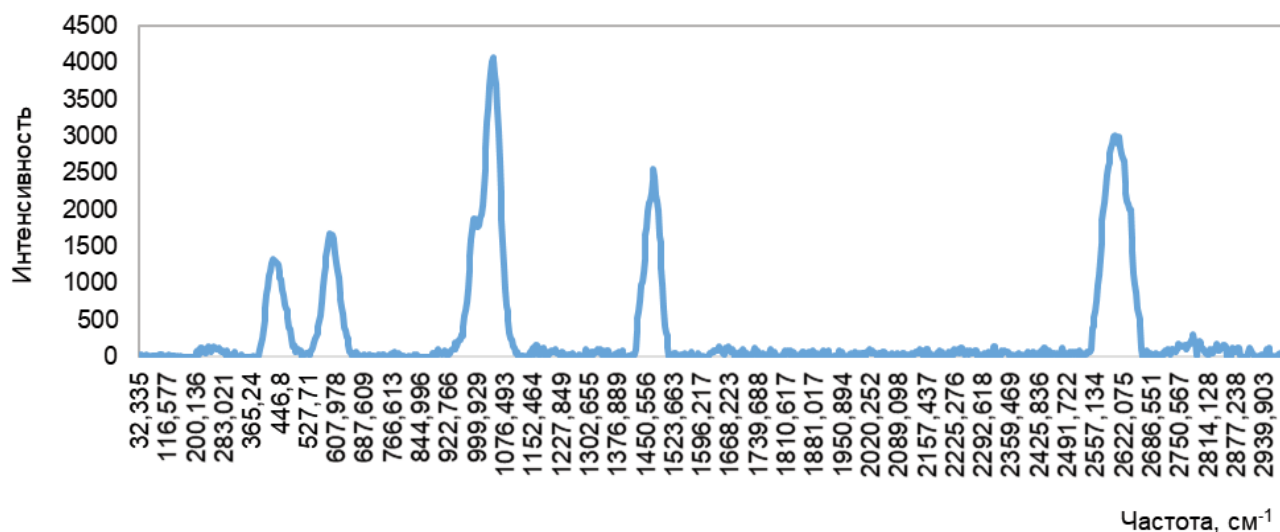


Рисунок 12 – Спектр комбинационного рассеяния исходного образца субстанции лизиноприла.

вированной субстанции эналаприла отсутствовали 2 максимальных по интенсивности пика при частоте  $1046\text{ см}^{-1}$  и  $2601\text{ см}^{-1}$ , соответствующие карбоксильной группе (рис. 11).

На спектре комбинационного рассеяния исходного образца субстанции лизиноприла (рис. 12) были зарегистрированы 5 пиков на следующих частотах:  $431\text{ см}^{-1}$ ,  $598\text{ см}^{-1}$ ,  $1046\text{ см}^{-1}$ ,  $1471\text{ см}^{-1}$ ,  $2609\text{ см}^{-1}$ . Спектр ГКР инаktivированного образца субстанции лизиноприла характеризовался отсутствием 2 пиков карбоксильной группы, преобладающей интенсивности, частотой  $1046\text{ см}^{-1}$  и  $2609\text{ см}^{-1}$  (рис. 13).

На рамановском спектре исходного образца субстанции периндоприла присутствовали 4 пика при следующих частотах:  $447\text{ см}^{-1}$ ,  $589\text{ см}^{-1}$ ,  $1043\text{ см}^{-1}$ ,  $2578\text{ см}^{-1}$  (рис. 14).

В свою очередь, на спектре образца инаktivированной субстанции периндоприла (рис. 15) отмечено уменьшение интенсивности характеристического для карбоксильной группы пика при  $1043\text{ см}^{-1}$  и полное отсутствие пика при частоте  $2578\text{ см}^{-1}$ . Уменьшение, а не полное исчезновение пика обусловлено тем, что периндоприл в субстанции находится в виде комплекса с трет-бутиламином, а первичные аминные группы характеризуются максимумами пиков в диапазоне  $1240\text{--}1020\text{ см}^{-1}$  [13].

Максимумы 8 пиков на поверхностно-усиленном рамановском спектре исходного образца субстанции рамиприла (рисунок 16) соответствовали следующим частотам:  $294\text{ см}^{-1}$ ,  $448\text{ см}^{-1}$ ,  $555\text{ см}^{-1}$ ,  $803\text{ см}^{-1}$ ,  $1096\text{ см}^{-1}$ ,  $1484\text{ см}^{-1}$ ,  $1758\text{ см}^{-1}$ ,  $2574\text{ см}^{-1}$ .

Спектр ГКР инаktivированного образца

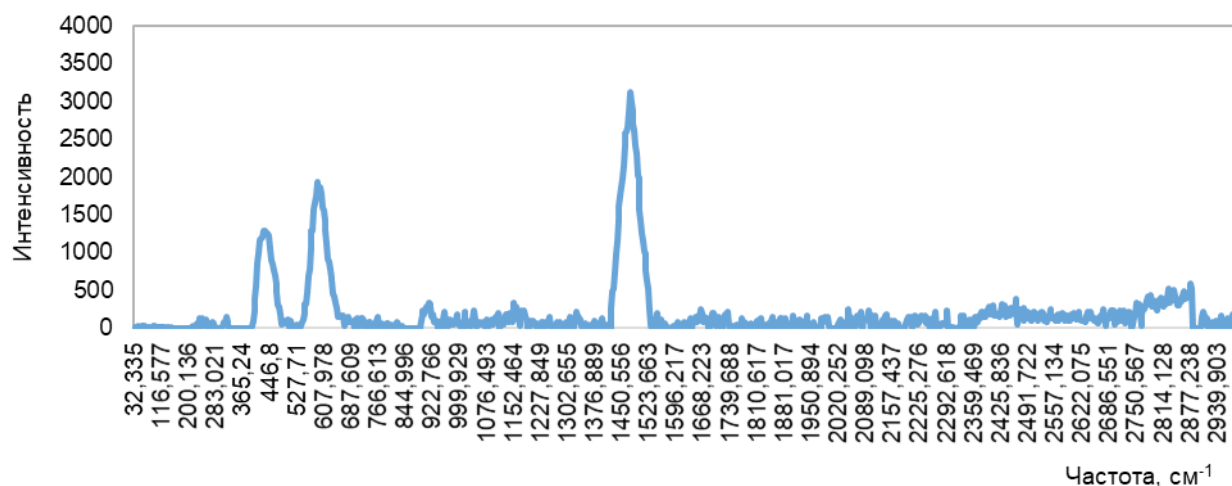


Рисунок 13 – Спектр ГКР инаktivированного образца лизиноприла.

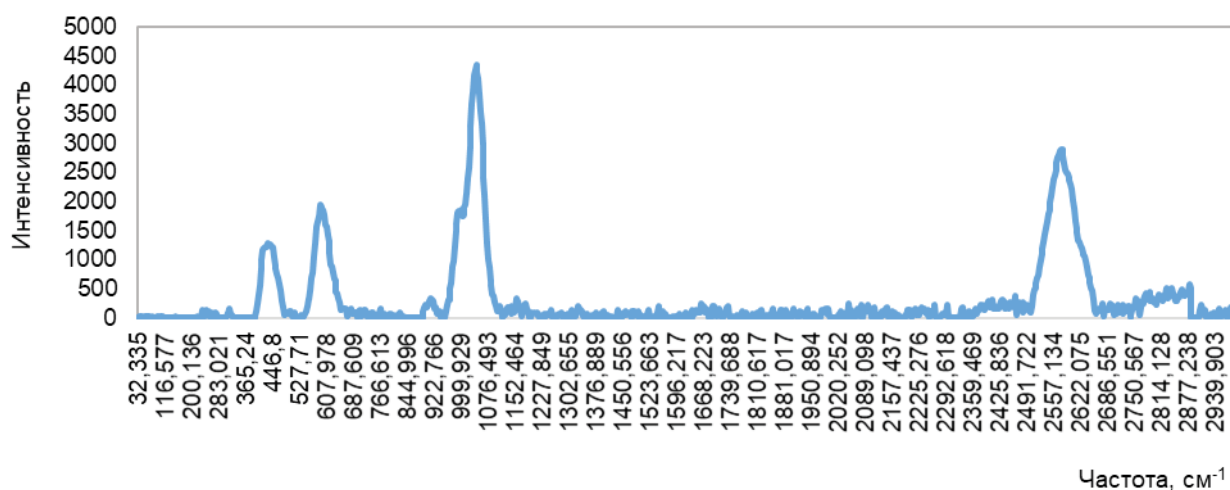


Рисунок 14 – Рамановский спектр исходного образца субстанции периндоприла.



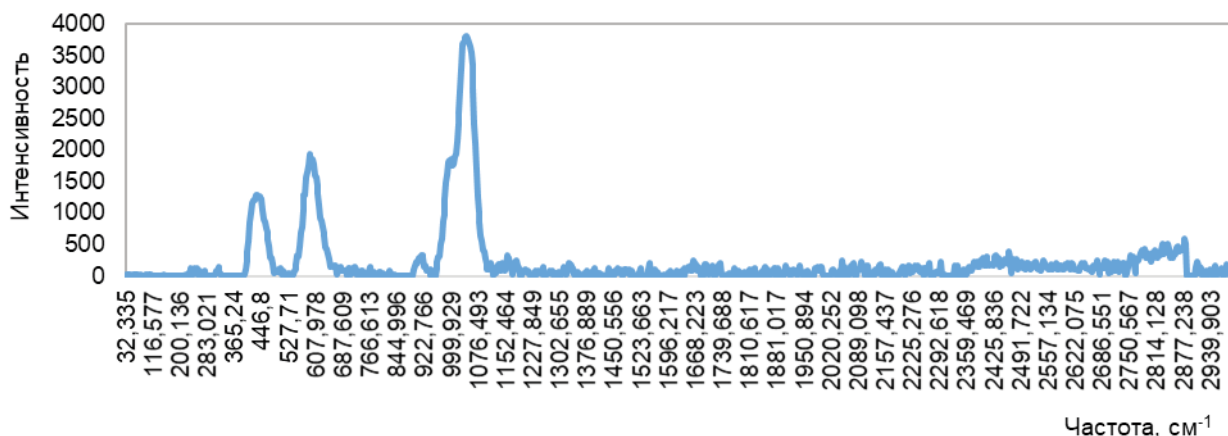


Рисунок 15 – Спектр ГКР инактивированного образца субстанции периндоприла.

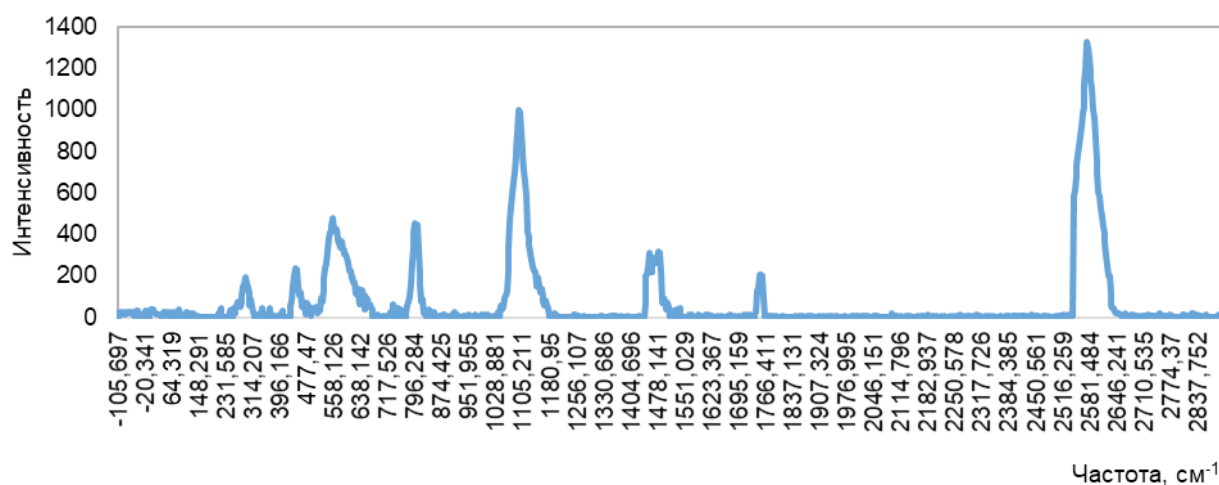


Рисунок 16 – Спектр гигантского комбинационного рассеяния исходного образца субстанции рамиприла.

субстанции рамиприла не содержал 2 максимальных пиков, характерных для карбоксильной группы, на частотах  $1096\text{ см}^{-1}$  и  $2574\text{ см}^{-1}$  (рис. 17).

Для оценки токсичности потенциальных биоактивных молекул, образующихся в результате утилизации ЛС, выбран метод количественного соотношения «структура-токсичность» (QSTR). Двумерные структуры химических веществ были взяты из базы данных NCBI PubChem, реакции построены с помощью онлайн-сервиса ChemDraw JS, в качестве идентификаторов химической структуры использовались SMILES и регистрационные номера CAS. Оценка токсичности исходных веществ и продуктов разрушения проводилась с использованием программы Toxicity Estimation Software Tool. Для определения токсичности использовался консенсусный подход, включающий следующие методы: иерархический, FDA, единой модели, группового вклада, ближайшего соседа. Общее количество

дескрипторов – 797. В качестве показателей токсичности были использованы такие конечные точки токсичности, как 96-часовая полулетальная концентрация, 48-часовая полулетальная концентрация, летальная оральная доза, коэффициент биоаккумуляции. Для проверки модели на предсказуемость и применимость использовалась внешняя статистическая валидация, при которой рассчитывались квадратные и многомерные коэффициенты корреляции, а также среднеквадратичная ошибка.

Рассчитанные на основании структуры исходного и инактивированного по предложенному химическому способу образцов лекарственных средств значения полулетальной дозы ( $LD_{50}$ ) для крыс при пероральном применении приведены в таблице 1.

Полученные расчетным методом с использованием программного обеспечения Molinspiration Cheminformatics [12] коэффициенты распреде-

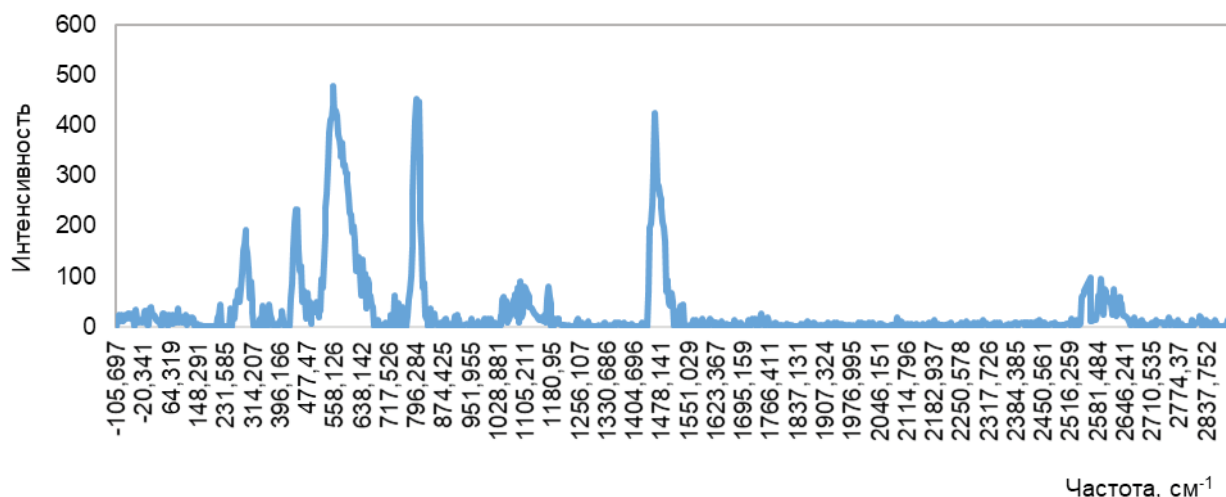


Рисунок 17 – Поверхностно-усиленный спектр неактивного продукта инактивации рамиприла.

Таблица 1 – Показатели токсичности для анализируемых лекарственных веществ, ингибирующих ангиотензинпревращающий фермент, и продуктов их инактивации

Вещество	Rat Oral LD <sub>50</sub> , мг/кг
Каптоприл	708,400
Продукт инактивации каптоприла	1963,000
Эналаприл	1467,000
Продукт инактивации эналаприла	1856,000
Лизиноприл	1227,000
Продукт инактивации лизиноприла	4349,000
Периндоприл	1874,000
Продукт инактивации периндоприла	2188,000
Рамиприл	777,500
Продукт инактивации рамиприла	3375,000

ления в системе октанол-вода ( $\log P_{ow}$ ) исходных молекул лекарственных веществ, ингибирующих ангиотензинпревращающий фермент, и продуктов их инактивации отражены в таблице 2.

## Обсуждение

Специфическими частотами спектра гигантского комбинационного рассеяния для карбоксильных групп, входящих в структуру химических веществ, являются интервалы 1190-1075  $\text{см}^{-1}$  и 3300-2500  $\text{см}^{-1}$  [13]. Применение двух предложенных вариантов реакции разрушения лекарственных средств группы ингибиторов ангиотензинпревращающего фермента 50% раствором  $\text{H}_2\text{SO}_4$  с нагреванием до 100°C позволило изменить структуру фармакофора активной молекулы лекарственного вещества с разрушением карбоксильных групп, определяющих основную фармакологическую активность. В структуре спектров гигантского комбинационного рассеяния инак-

тивированных образцов субстанции каптоприла, эналаприла, лизиноприла, периндоприла и рамиприла выявлено отсутствие пиков с наибольшей интенсивностью частот 1046  $\text{см}^{-1}$ , 1096  $\text{см}^{-1}$ , 1050  $\text{см}^{-1}$ , 2574  $\text{см}^{-1}$ , 2576  $\text{см}^{-1}$ , 2578  $\text{см}^{-1}$ , 2601  $\text{см}^{-1}$ , 2609  $\text{см}^{-1}$ , соответствующих карбоксильным группам. Снижение интенсивности пика 1043  $\text{см}^{-1}$  в образце инактивированной субстанции периндоприла объясняется совпадением положения пиков карбоксильной и первичной аминной группы в структуре лекарственного средства.

Проведенный анализ динамики изменения значений полулетальной дозы ( $\text{LD}_{50}$ ) исходных и разрушенных образцов исследуемых лекарственных средств позволил установить следующие закономерности. Отмечено увеличение показателя  $\text{LD}_{50}$  инактивированных образцов по сравнению с уровнем исходными молекулами всех исследуемых лекарственных средств, в том числе каптоприл в 2,8 раза, эналаприл в 1,3 раза, лизиноприл в 3,5 раза, периндоприл в 1,2 раза, рамиприл в 4,3

Таблица 2 – Показатели коэффициента распределения в системе октанол-вода ( $\log P_{ow}$ ) для анализируемых лекарственных веществ, ингибирующих ангиотензинпревращающий фермент, и продуктов их инактивации

Вещество	$\log P_{ow}$
Каптоприл	1,13
Продукт инактивации каптоприла	1,09
Эналаприл	2,73
Продукт инактивации эналаприла	2,50
Лизиноприл	2,44
Продукт инактивации лизиноприла	2,01
Периндоприл	3,12
Продукт инактивации периндоприла	2,02
Рамиприл	2,90
Продукт инактивации рамиприла	2,00

раза, что указывает на значительное снижение токсичности полученных продуктов.

Снижение липофильности и способности к биоаккумуляции продуктов инактивации всех исследуемых образцов лекарственных веществ, ингибирующих ангиотензинпревращающий фермент, подтверждается отрицательной динамикой изменения величины коэффициента распределения в системе октанол-вода ( $\log P_{ow}$ ). Установлено уменьшение значения  $\log P_{ow}$  для каптоприла на 3,6%, эналаприла на 8,4%, лизиноприла на 17,6%, периндоприла на 35,3%, рамиприла на 33%.

### Заключение

Проведенные исследования доказывают возможность применения химического способа утилизации фармацевтических отходов группы лекарственных средств, ингибирующих ангиотензинпревращающий фермент.

Предложенный химический способ утилизации фармацевтических отходов лекарственных средств группы ингибиторов ангиотензинпревращающего фермента с дифференцированным использованием различных химических реакций в зависимости от строения фармакофора активной молекулы лекарственного вещества обеспечивает эффективность обезвреживания и экологическую безопасность.

Научно обоснована целесообразность применения химического способа разрушения фармакофора с целью утилизации фармацевтических отходов группы ингибиторов ангиотензинпревращающего фермента с образованием прогнозируемых инактивированных продуктов, обладающих низкой токсичностью и сниженной

способностью к аккумулярованию в биологических системах.

### Литература

1. Всемирный атлас профилактики сердечно-сосудистых заболеваний и борьбы с ними / под ред.: S. Mendis, P. Puska, B. Norrving ; Всемир. орг. здравоохранения. – Женева, 2013. – 155 с.
2. Об установлении перечня лекарственных средств, реализуемых без рецепта : постановление М-ва здравоохранения Респ. Беларусь, 10 апр. 2019 г., № 27 // Pravo.by [Электронный ресурс] : Нац. правовой Интернет-портал Респ. Беларусь / Нац. центр правовой информ. Респ. Беларусь. – Режим доступа: <https://pravo.by/document/?guid=12551&p0=W21934175&p1=1>. – Дата доступа: 03.02.2021.
3. Pharmaceuticals and Environment [Electronic resource]. – Mode of access: <https://www.janusinfo.se/environment>. – Date of access: 03.02.2021.
4. Разработка методики моделирования взаимодействия биологически активных веществ с активным центром ангиотензин-превращающего фермента / А. А. Глушко [и др.] // Фармация и фармакология. – 2017. – Т. 5, № 5. – Р. 487–503.
5. Angiotensin-I-converting enzyme inhibitory peptides: Chemical feature based pharmacophore generation / Z. Wang [et al.] // Eur. J. Med. Chem. – 2011 Aug. – Vol. 46, N 8. – Р. 3428–3433.
6. Characterization of domain-selective inhibitor binding in angiotensin-converting enzyme using a novel derivative of Lisinopril / J. M. Watermeyer [et al.] // Biochem. J. – 2010 Apr. – Vol. 428, N 1. – Р. 67–74.
7. Tzakos, A. G. Domain-Selective Ligand-Binding Modes and Atomic Level Pharmacophore Refinement in Angiotensin I Converting Enzyme (ACE) Inhibitors / A. G. Tzakos, I. P. Gerathanassis // Chembiochem. – 2005 Jun. – Vol. 6, N 6. – Р. 1089–1103.
8. Structure-Based Pharmacophore Design and Virtual Screening for Novel Angiotensin Converting Enzyme 2 Inhibitors / M. Rella [et al.] // J. Chem. Inf. Model. – 2006 Mar-Apr. – Vol. 46, N 2. – Р. 708–716.
9. Progress in the development of SERS-active substrates based



- on metal-coated porous silicon / H. V. Bandarenka [ et al.] // Materials (Basel). – 2018 May. – Vol. 11, N 5. – P. 852.
10. GusarOnline [Electronic resource]. – Mode of access: <http://www.way2drug.com/gusar/acutoxpredict.html>. – Date of access: 03.02.2021.
  11. Андреева, Е. П. Расчет липофильности органических соединений на основе структурного сходства и молекулярных физико-химических дескрипторов / Е. П. Андреева, О. А. Раевский // Хим.-фармацевт. журн. – 2009. – Т. 43, № 5. – С. 28–32.
  12. Molinspiration Cheminformatics [Electronic resource]. – Mode of access: <https://www.molinspiration.com/>. – Date of access: 03.02.2021.
  13. Socrates, G. Infrared and Raman characteristic group frequencies: tables and charts / G. Socrates. – London, England : John Wiley & Sons Ltd, 2001. – 362 p.
  14. Xi, W. Promoting Intra- and Intermolecular Interactions in Surface-Enhanced Raman Scattering / W. Xi, B. K. Shrestha, A. J. Haes // Anal. Chem. – 2018 Jan. – Vol. 90, N 1. – P. 128–143.

Поступила 29.10.2020 г.

Принята в печать 15.02.2021 г.

## References

1. Mendis S, Puska P, Norrving B, red; Vsemir org zdravookhraneniia. World Atlas on Cardiovascular Disease Prevention and Control. Geneva, Switzerland; 2013. 155 p. (In Russ.)
2. On establishing a list of medicines sold without a prescription: postanovlenie M-va zdravookhraneniia Resp Belarus', 10 apr 2019 g, № 27. Nats tsentr pravovoi inform. Resp. Belarus'. Pravo.by [Elektronnyi resurs]: Nats pravovoi Internet-portal Resp Belarus'. Rezhim dostupa: <https://pravo.by/document/?gu id=12551&p0=W21934175&p1=1>. Data dostupa: 03.02.2021. (In Russ.)
3. Pharmaceuticals and Environment. Available from: <https://www.janusinfo.se/environment>. [Accessed 03th Fev 2021].
4. Glushko AA, Chiryapkin AS, Chiryapkin VS, Murtuzalieva AM, Polkovnikova YuA. Development of a technique for modeling the interaction of biologically active substances with the active center of an angiotensin-converting enzyme. Farmatsiia Farmakologiya. 2017;5(5):487-503. (In Russ.)
5. Wang Z, Zhang S, Jin H, Wang W, Huo J, Zhou L, et al. Angiotensin-I-converting enzyme inhibitory peptides: Chemical feature based pharmacophore generation. Eur J Med Chem. 2011 Aug;46(8):3428-33. doi: 10.1016/j.ejmech.2011.05.007
6. Watermeyer JM, Kröger WL, O'Neill HG, Sewell BT, Sturrock ED. Characterization of domain-selective inhibitor binding in angiotensin-converting enzyme using a novel derivative of Lisinopril. Biochem J. 2010 Apr;428(1):67-74. doi: 10.1042/BJ20100056.
7. Tzakos AG, Gerothanassis IP. Domain-Selective Ligand-Binding Modes and Atomic Level Pharmacophore Refinement in Angiotensin I Converting Enzyme (ACE) Inhibitors. Chembiochem. 2005 Jun;6(6):1089-103. doi: 10.1002/cbic.200400386
8. Rella M, Rushworth CA, Guy JL, Turner AJ, Langer T, Jackson RM. Structure-Based Pharmacophore Design and Virtual Screening for Novel Angiotensin Converting Enzyme 2 Inhibitors. J Chem Inf Model. 2006 Mar-Apr;46(2):708-16. doi: 10.1021/ci0503614
9. Bandarenka HV, Girel KV, Zavatski SA, Panarin A, Terekhov SN. Progress in the development of SERS-active substrates based on metal-coated porous silicon. Materials (Basel). 2018 May 21;11(5):852. doi: 10.3390/ma11050852
10. GusarOnline. Available from: <http://www.way2drug.com/gusar/acutoxpredict.html>. [Accessed 03th Fev 2021].
11. Andreeva EP, Raevskiy OA. Calculation of lipophilicity of organic compounds based on structural similarity and molecular physicochemical descriptors. Khim-Farmatsevt Zhurn. 2009;43(5):28-32. (In Russ.)
12. Molinspiration Cheminformatics. Available from: <https://www.molinspiration.com/>. [Accessed 03th Fev 2021].
13. Socrates G. Infrared and Raman characteristic group frequencies: tables and charts. London; England: John Wiley & Sons Ltd; 2001. 362 p.
14. Xi W, Shrestha BK, Haes AJ. Promoting Intra- and Intermolecular Interactions in Surface-Enhanced Raman Scattering. Anal Chem. 2018 Jan;90(1):128-143. doi: 10.1021/acs.analchem.7b04225

Submitted 29.10.2020

Accepted 15.02.2021

## Сведения об авторах:

Авсейко М.В. – старший преподаватель кафедры фармацевтической химии, Белорусский государственный медицинский университет;

Яранцева Н.Д. – к.ф.н., доцент, заведующая кафедрой фармацевтической химии, Белорусский государственный медицинский университет.

## Information about authors:

Avseiko M.V. – senior lecturer of the Chair of Pharmaceutical Chemistry, Belarusian State Medical University;

Yarantseva N.D. – Candidate of Pharmaceutical Sciences, associate professor, head of the Chair of Pharmaceutical Chemistry, Belarusian State Medical University.

**Адрес для корреспонденции:** Республика Беларусь, 220116, г. Минск, пр. Дзержинского, 83, Белорусский государственный медицинский университет, кафедра фармацевтической химии. E-mail: YarantsevaND@bsmu.by – Наталья Дмитриевна Яранцева.

**Correspondence address:** Republic of Belarus, 220116, Minsk, 83 Dzerzhinskogo ave., Belarusian State Medical University, Chair of Pharmaceutical Chemistry. E-mail: YarantsevaND@bsmu.by – Natalia D. Yarantseva.

## КЛИНИЧЕСКИЙ СЛУЧАЙ ВТОРИЧНОГО ИММУНОДЕФИЦИТА НА ФОНЕ ПРИОБРЕТЕННОЙ ГИПЕРХОЛЕСТЕРИНЕМИИ

ПРУДНИКОВ А.Р.<sup>1</sup>, ЯНЧЕНКО В.В.<sup>1</sup>, СИДОРЕНКО О.Ф.<sup>2</sup>, НИКОЛЬСКАЯ О.В.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет, г. Витебск, Республика Беларусь

<sup>2</sup>Витебская областная клиническая больница, г. Витебск, Республика Беларусь

Вестник ВГМУ. – 2021. – Том 20, №1. – С. 111-119.

## CLINICAL CASE OF SECONDARY IMMUNODEFICIENCY AGAINST THE BACKGROUND OF ACQUIRED HYPERCHOLESTEROLEMIA

PRUDNIKOV A.R.<sup>1</sup>, YANCHANKA U.V.<sup>1</sup>, SIDARENKA V.F.<sup>2</sup>, NIKOLSKAYA V.V.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University, Vitebsk, Republic of Belarus

<sup>2</sup>Vitebsk Regional Clinical Hospital, Vitebsk, Republic of Belarus

Vestnik VGMU. 2021;20(1):111-119.

### Резюме.

Представлен клинический случай вторичного иммунодефицита легкой степени тяжести на фоне несбалансированного питания (дефицит холестерина в пище) с клиникой рецидивирующих инфекций верхних дыхательных путей и компенсаторной гиперхолестеринемией легкой степени. У пациента был выявлен дефицит Т-хелперов наряду с повышением общего холестерина и липопротеинов низкой плотности. Пациенту был назначен прием пищи, обогащенной холестерином. По прошествии 5 месяцев наблюдалась практически полная нормализация показателей липидного профиля и параметров Т-клеточного иммунитета. Прием пищи, обогащенной холестерином, способствовал нормализации обмена липопротеинов и показателей Т-клеточного иммунитета и приводил к адекватному иммунному ответу на внедряемую инфекцию.

**Ключевые слова:** вторичный иммунодефицит, гиперхолестеринемия, Т-клеточный иммунитет, вирусная инфекция.

### Abstract.

A clinical case of secondary immunodeficiency of mild severity against the background of unbalanced nutrition (food cholesterol deficiency) with a clinical pattern of recurrent upper respiratory tract infections and compensatory hypercholesterolemia of mild degree is presented. The patient had a deficiency of T-helper cells with the increase of total cholesterol and low-density lipoproteins. The patient was prescribed a meal enriched with cholesterol. After 5 months, almost complete normalization of the lipid profile and parameters of T-cell immunity was observed. The intake of food enriched with cholesterol contributed to the normalization of lipoprotein metabolism and T-cell immunity indicators and led to an adequate immune response to the introduced infection.

**Key words:** secondary immunodeficiency, hypercholesterolemia, T-cell immunity, viral infection.

Клинический случай из практики. Пациент А., 27 лет, в июне 2019 г. обратился к аллергологу-иммунологу с жалобой на частое развитие острых респираторных вирусных инфекций (ОРВИ) за последние 4 месяца – один эпизод каждый месяц, продолжительность каждого эпизода составила в среднем от 8 до 10 дней. Ранее

подобное происходило не более 2 раз в год.

Во время эпизодов ОРВИ у пациента фиксировалась повышенная температура тела не более 37,3°C, наблюдалась легкая слабость без ломоты тела и арталгии, с ощущением царапания в горле и небе в течение первых суток и наличием слизистых выделений из носа примерно с 4 дня

болезни. Через 3-4 дня от начала болезни присоединялась бактериальная инфекция, сопровождающаяся наличием желтых выделений из носа, без боли в горле, с кашлем на 6 сутки заболевания и выделением слизистой мокроты светлого цвета в небольшом количестве. Пациент не прекращал трудиться. Принимал общеукрепляющую терапию: витамин С 1000 мг на 1 л кипяченой воды в течение дня, продолжительность приема первые 2 эпизода ОРВИ составила 3 суток, последние 2 эпизода – до 5 суток. Полоскал горло антисептиком (хлоргексидин 3 раза в день после каждого приема пищи). Принимал 1 столовую ложку меда на ночь с теплым молоком (при отсутствии фарингита). Антибиотики не принимал.

При объективном осмотре патологии со стороны дыхательной, сердечно-сосудистой и других систем не выявлено. До начала нутриентной иммунотерапии для объективного контроля пациенту назначили общий анализ крови (ОАК), иммунограмму (фенотипирование лимфоцитов крови проводили с использованием тест-систем на основе моноклональных антител Invitrogen; иммуноглобулины определяли турбидиметрическим методом с использованием тест-систем компании Abbott на биохимическом анализаторе ARCHITECT c4000) и биохимический анализ крови (БАК) выполняли на анализаторе ARCHITECT c4000 (табл. 1).

Полученные результаты обследования выявили угнетение Т-клеточного иммунитета в виде снижения общего количества Т-лимфоцитов по абсолютным цифрам на 28% ( $0,874 \times 10^9/\text{л}$ ) от нижней границы нормы ( $1,2 \times 10^9/\text{л}$ ), на 19% – Т-хелперов ( $0,57 \times 10^9/\text{л}$  при норме выше  $0,7 \times 10^9/\text{л}$ ), также выявлено незначительное увеличение на 10% количества циркулирующих иммунных комплексов (65 усл.ед. при норме до 56 усл.ед.). По результатам БАК определено увеличение концентрации общего холестерина на 9,4% (5,8 ммоль/л – легкая гиперхолестеринемия при норме до 5,2 ммоль/л), увеличение концентрации липопротеинов низкой плотности (ХС ЛПНП) – на 14,7% (3,9 ммоль/л – легкая гиперлипидемия при норме до 3,4 ммоль/л). Результаты ОАК отклонений от показателей нормы не показали.

На основании полученных данных был выставлен диагноз: вторичный иммунодефицит, дефицит Т-хелперов легкой степени тяжести на фоне несбалансированного питания (дефицит холестерина в пище) с клиникой рецидивирующих

инфекций верхних дыхательных путей и компенсаторной гиперхолестеринемией легкой степени [1]. Пациенту было рекомендовано увеличить потребление холестерина с пищей, а именно принимать 15 г 82,5% сливочного масла с щепоткой корицы (для улучшения реабсорбции липидов в желудочно-кишечном тракте) 4 раза в день во время еды. Контроль ранее определенных показателей крови производился через 3-5 месяцев.

В ноябре 2019 г. была проведена повторная консультация пациента. За данный промежуток времени пациент не отмечал ухудшения самочувствия. Рекомендациям следовал, однако сливочное масло с корицей принимал только 2 раза в день (утром и вечером). В связи с этим в диетотерапию рекомендовали включить прием 200 мл сливок 10% жирности утром и вечером. У пациента был произведен повторный забор крови для оценки динамики ранее исследованных показателей (рис. 1).

Полученные результаты выявили параметры БАК и иммунограммы, выходящие за пределы нормативных значений. Они представлены на рисунках 2 и 3. Результаты ОАК за период наблюдения существенно не изменились.

За прошедшие 5 месяцев с начала диетотерапии отмечена практически полная нормализация показателей липидного профиля: уровень общего холестерина снизился на 10% и достиг верхней границы нормы, содержание ХС ЛПНП снизилось на 11,8% и превышало границу нормы менее чем на 5% (3,6 ммоль/л). Стоит отметить, что индекс атерогенности за весь период наблюдения не превышал значения 3,0, т.е. значительной разбалансировки в обмене липопротеинов не было выявлено (рис. 2).

За период наблюдения отмечено улучшение показателей Т-клеточного иммунитета: общее количество Т-лимфоцитов увеличилось на 23% и составляло 86% ( $1,03 \times 10^9/\text{л}$ ) от нормативных значений, количество Т-хелперов возросло на 7% и составляло 84% от нормативных показателей ( $0,6 \times 10^9/\text{л}$ ), количество Т-киллеров увеличилось на 47% и в течение длительного срока наблюдения было в пределах нормы (рис. 3).

На настоящий момент пациент постоянно принимает сливочное масло (жирность 82,5%) с корицей 1 раз в день утром, а также 200 мл сливок (10% жирности) вечером, и каждые 6 месяцев проводит контроль показателей клеточного и гуморального иммунитета, а также параметров липидного профиля.

Таблица 1 – Показатели ОАК, БАК и иммунограммы у пациента при первом визите в июне 2019 г.

Параметры иммунограммы	Показатели пациента	Референсные значения	Параметры ОАК	Показатели пациента	Референсные значения	Параметры БАК	Показатели пациента	Референсные значения
Т-лимфоциты общие (CD3 <sup>+</sup> ), %	46	58-67	СОЭ мм/ч	4	1-10	АлАТ, е/л	36	8-56
Т-лимфоциты общие (CD3 <sup>+</sup> ), 10 <sup>9</sup> /л	0,874	1,2-3,0	Эритроциты (*10 <sup>12</sup> )	5,34	3,7-5,1	АсАТ, е/л	23	5-40
Т-лимфоциты активные (CD3 <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup> HLA-DR <sup>+</sup> ), %	29	24-30	Гемоглобин г/л	163	120-170	Глюкоза, ммоль/л	4,7	3,3-6,1
Т-лимфоциты активные (CD3 <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup> HLA-DR <sup>+</sup> ), 10 <sup>9</sup> /л	0,551	0,4-0,8	Лейкоциты (10 <sup>9</sup> /л)	5,67	4,0-9,0	Билирубин общий, мкмоль/л	9,1	8,5-20,5
Т-хелперы (CD3 <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup> ), %	30	35-48	Базофилы (%)	1	0-1	Билирубин прямой, мкмоль/л	3,1	2,1-5,1
Т-хелперы (CD3 <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup> ), 10 <sup>9</sup> /л	0,57	0,7-0,85	Базофилы (10 <sup>9</sup> /л)	0,02	0-0,1	Щелочная фосфатаза, е/л	52	До 104
Т-киллеры (CD3 <sup>+</sup> CD8 <sup>+</sup> ), %	16	18-25	Палочкоядерные нейтрофилы (%)	1	1-6	γ –глутамил-транспептидаза (ГГТП) е/л	26	7-50
Т-киллеры (CD3 <sup>+</sup> CD8 <sup>+</sup> ), 10 <sup>9</sup> /л	0,304	0,27-0,54	Палочкоядерные нейтрофилы (10 <sup>9</sup> /л)	0,056	0,04-0,54	Общий белок, г/л	77	65-85
Иммунорегуляторный индекс (ИРИ)	1,8	1,4-2,0	Сегментоядерные нейтрофилы (%)	50	45-70	Мочевина, ммоль/л	6,3	2,6-8,35
В-лимфоциты (CD19 <sup>+</sup> ), %	21	16-24	Сегментоядерные нейтрофилы (10 <sup>9</sup> /л)	2,83	2,0-5,5	Креатинин, ммоль/л	0,087	0,04-0,1
В-лимфоциты (CD19 <sup>+</sup> ), 10 <sup>9</sup> /л	0,399	0,2-0,5	Эозинофилы (%)	1	1-5	Общий холестерин, ммоль/л	5,8	2,9-5,3
IgA, г/л	1,47	0,9-4,5	Эозинофилы (10 <sup>9</sup> /л)	0,08	0,04-0,3	ХС ЛПНП, ммоль/л	3,9	0,65-3,4
IgM, г/л	1,01	0,6-2,5	Моноциты (%)	6	2-14	ХС ЛПВП, ммоль/л	1,6	0,9-2,4
IgG, г/л	14,1	8-18	Моноциты (10 <sup>9</sup> /л)	0,32	0,08-0,6	ТГ, ммоль/л	1,0	0,68-1,88
Циркулирующие иммунные комплексы, ед.	65	до 56	Лимфоциты (%)	42	18-48	Индекс атерогенности	2,6	2,0-3,0
Фагоцитарный индекс, %	88	80-90	Лимфоциты (10 <sup>9</sup> /л)	1,9	1,2-3,5	СРБ, г/л	1,2	до 6
Фагоцитарное число, ед.	9,2	8,9-12,3	Тромбоциты (10 <sup>9</sup> /л)	222	150-450	Мочевая кислота, мкмоль/л	0,34	0,2-0,41

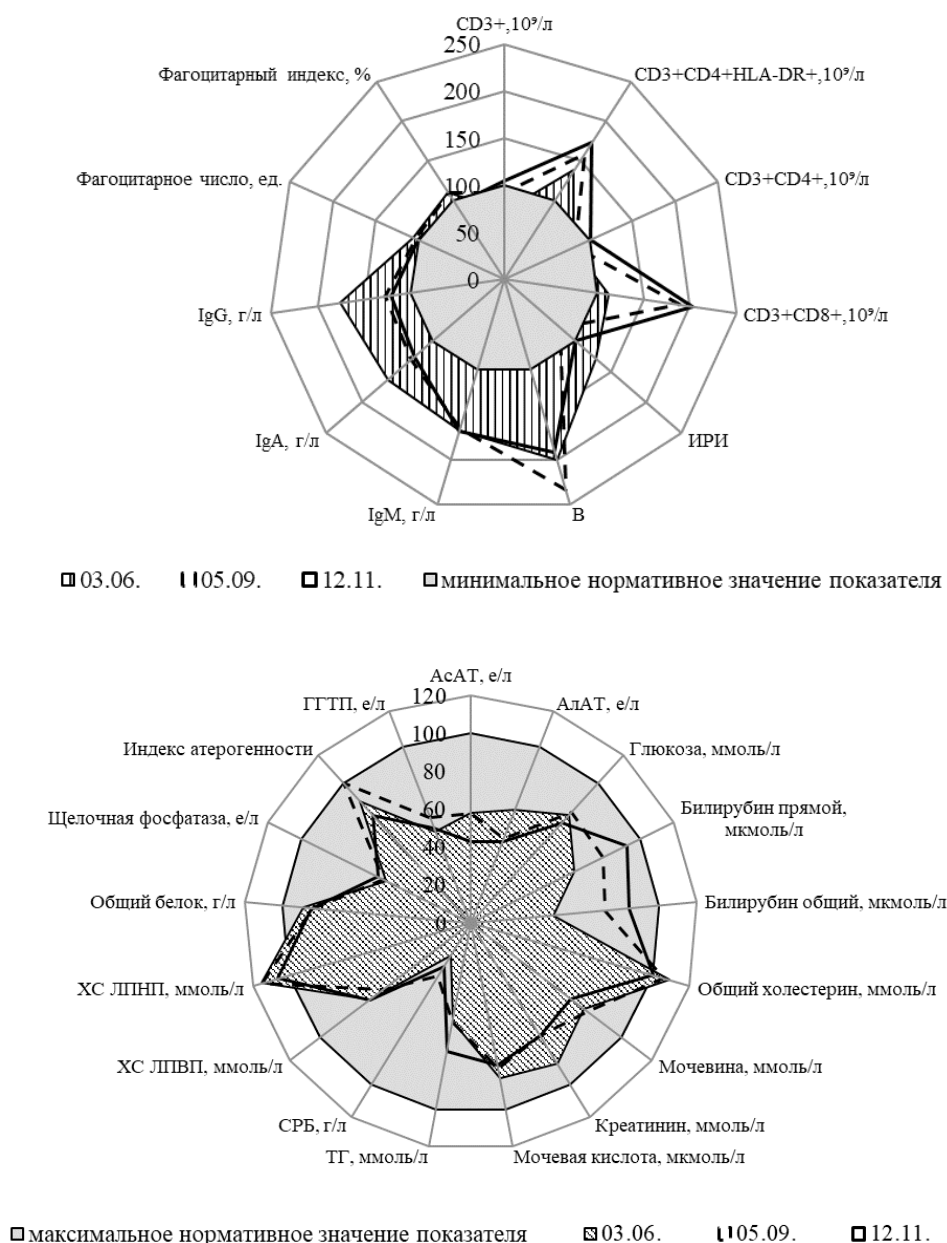


Рисунок 1 – Динамика показателей БАК и иммунограммы пациента по отношению к максимальному (БАК) и минимальному (иммунограмма) нормативному значению за весь период наблюдения (июнь–ноябрь 2019 г.): 03.06, 05.09, 12.11 – даты забора анализов; ТГ – триглицериды, ХС ЛПНП – липопротеины низкой плотности, ХС ЛПВП – липопротеины высокой плотности, ГГТП –  $\gamma$ -глутамилтрансфераза, СРБ – С-реактивный белок, АлАт – аланинаминотрансфераза, АсАТ – аспартатаминотрансфераза.

## Обсуждение

Причину развития депрессии иммунитета мы связываем с нехваткой потребления достаточного количества холестерина, вследствие этого увеличился его эндогенный синтез в печени. Данные литературных источников указывают на то, что иммунометаболизм холестерина играет

ключевую роль в управлении функционированием клеток системы иммунитета, которое проявляется увеличением биосинтеза эндогенного холестерина в ответ на воспалительную реакцию, вызванную инфекционным агентом [2]. Так, по данным К-У. Chyu et al. и эндогенные, и экзогенные источники холестерина играют важную роль в модуляции функций лимфоцитов [3-5].

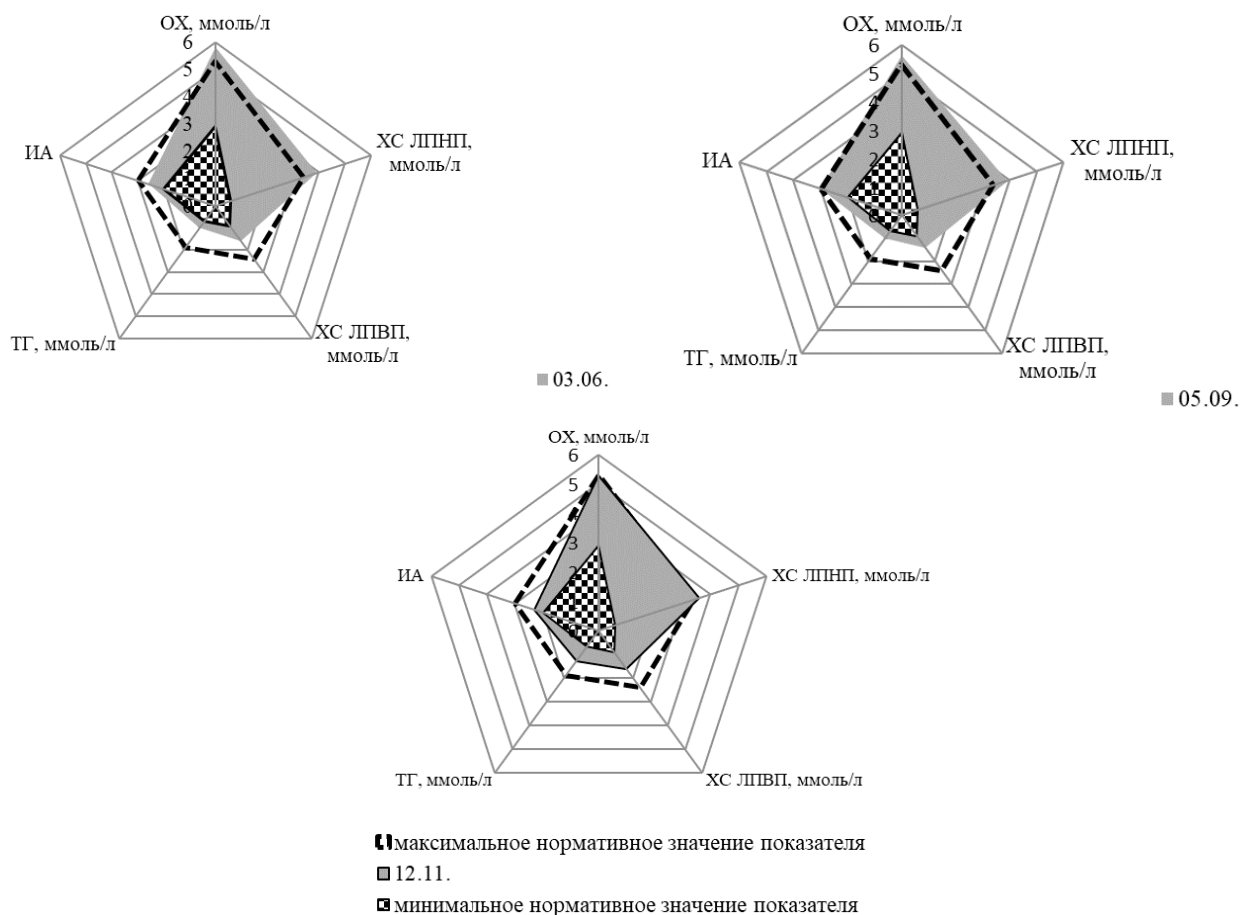


Рисунок 2 – Показатели липидного профиля за весь период наблюдения: 03.06, 05.09, 12.11 – даты забора анализов, ТГ – триглицериды, ОХ – общий холестерин, ИА – индекс атерогенности, ХС ЛПНП – липопротеины низкой плотности, ХС ЛПВП – липопротеины высокой плотности.

При блокировании как эндогенного, так и экзогенного источника холестерина по отдельности было выявлено ингибирование даже митогенстимулированной пролиферации лимфоцитов [6, 7]. С другой стороны, именно экзогенные источники холестерина из различных фракций липопротеинов поддерживают пролиферацию лимфоцитов и, соответственно, происходит увеличение их количества в костном мозге, кровотоке и лимфатических узлах [3].

По данным М.Л. Доценко и соавт. при снижении содержания общего холестерина (на фоне гиполипидемической диеты) наблюдается как уменьшение общего количества лимфоцитов, так и всех субпопуляций данных лейкоцитов [8], а по данным M.F. Muldoon et al. происходит уменьшение только количества субпопуляций Т-лимфоцитов (CD3, CD4, CD8) на фоне нормального количества лимфоцитов [9]. С другой стороны, существует мнение, что для оптимального функционирования

иммунной системы уровень общего холестерина должен быть в пределах 6,0-6,5 ммоль/л [10]. Также необходимо учитывать не только повышение концентрации общего холестерина, но и его фракций. Так, при увеличении синтеза эндогенного холестерина возрастает концентрация ЛПНП для его транспортировки, в том числе в лейкоциты [2]. Избыточное же накопление эндогенного холестерина в клетке ведет к его этерификации, в том числе на фоне дефектов или недостатка на клеточной мембране гепатоцитов (и других клеток) рецепторов SOAT 1, LPX, SREBP, и, как следствие, к образованию и выделению липопротеинов в кровоток (рис. 4) и неблагоприятному влиянию на численность и активность лейкоцитов [2]. В данной ситуации транспорт холестерина из клетки и его обратный транспорт (ХС ЛПВП) в печень могут представлять собой физиологическую адаптацию для ограничения или разрешения воспалительных реакций клеток системы иммунитета, в том числе

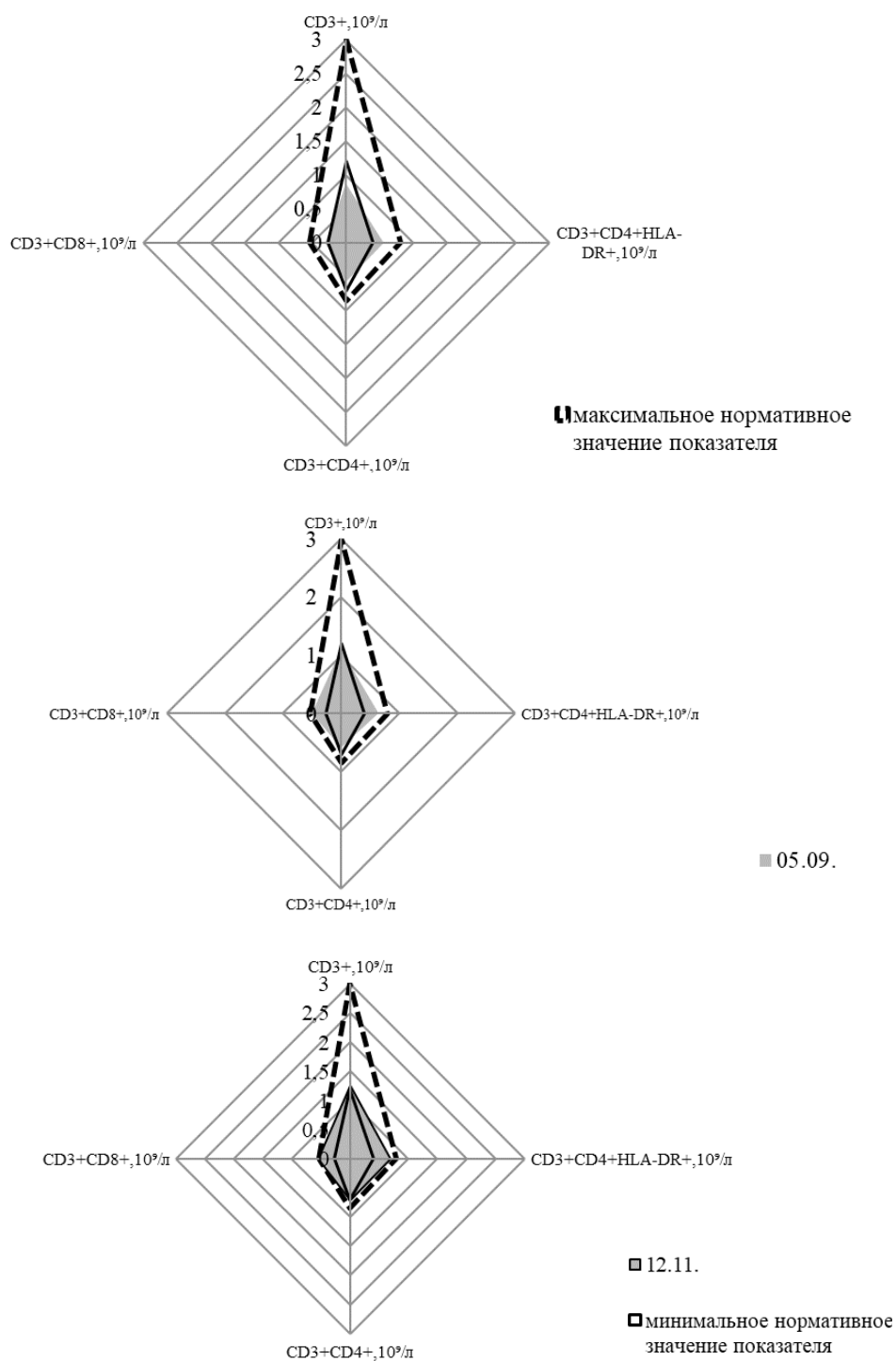


Рисунок 3 – Показатели Т-клеточного иммунитета за весь период наблюдения: 03.06, 05.09, 12.11 – даты забора анализов, CD3<sup>+</sup> – Т-лимфоциты общие, CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup> – Т-киллеры, CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup> – Т-хелперы, CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>HLA-DR<sup>+</sup> – Т-лимфоциты активные.

путем стабилизации компонентов клеточных мембран [11].

Согласно данным E. Varol et al. концентрация ХС ЛПВП положительно коррелирует с количеством лимфоцитов, являющихся, в свою

очередь, одним из индикаторов вирусной инфекции, что может служить еще одним объяснением наблюдаемой клинической картины [12]. Так, по данным липидного профиля и иммунограммы при 2-ом и 3-ем заборе крови отмечалось увели-

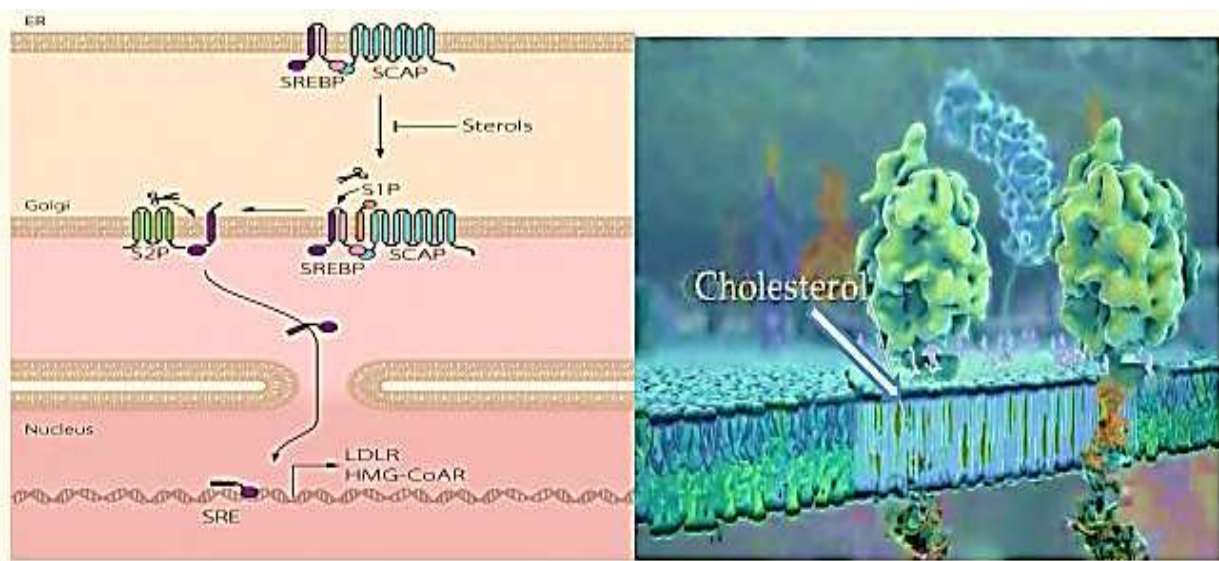


Рисунок 4 – Упрощенная схема внутриклеточного контроля гомеостаза холестерина (левая часть рисунка – схема, справа – фрагмент компьютерной модели): SREBP (sterol regulatory element-binding protein) встроен в мембрану клеточного эндоплазматического ретикула (ER). Когда содержание холестерина в мембранах ER снижается, интегральный мембранный белок SCAP (srebp-активирующий расщепление белок) связывается с белками COP II (coat protein complex II), которые включают комплекс SCAP/SREBP в везикулы, и переносятся в аппарат Гольджи. Расщепление SREBP протеазами S1P и S2P позволяет ему проникать в клеточное ядро, где он активирует гены, повышающие синтез и поглощение холестерина, такие как ГМГ-КоА-редуктаза и ХС ЛПНП (адаптировано из источника [11]). Благодаря холестерину в мембране формируются липидные плотники, являющиеся ключевой структурой рецепторного аппарата клеточной мембраны.

чение концентрации ХМ ЛПВП и соответствующий рост общего количества Т-лимфоцитов и Т-хелперов. С другой стороны, отмечена пластичность ХС ЛПВП в развитии воспаления, а именно в стимулировании провоспалительных функций макрофагов и угнетении функций лимфоцитов, что на фоне увеличения концентрации ХС ЛПВП следует расценивать как ответ на рост содержания ХС ЛПНП и других липопротеинов [2].

Известно, что холестерин активно используется для синтеза стероидных гормонов, которые, в свою очередь, воздействуя практически на все компоненты системы иммунитета, принимают активное участие в регулировании активности воспалительного процесса [13]. В частности, кортизол, вырабатываемый надпочечниками, подавляет функции лейкоцитов на всех уровнях их дифференцировки, способствуя ингибированию воспаления на всех стадиях процесса [14]. Таким образом, увеличение концентрации холестерина ведет к увеличению уровня кортизола и, в том числе, к депрессии легкой степени Т-клеточного иммунитета, как в данном клиническом случае. Стоит отметить, что при хронизации воспалительного процесса и/или наличии хронического

стресса гиперсекреция кортизола способствует откладыванию жира в брюшной полости, повышению уровня ХС ЛПНП и снижению уровня ХС ЛПВП в крови, что ускоряет развитие атеросклероза [14].

Другой группой стероидных гормонов, влияющих на параметры системы иммунитета, являются половые гормоны. Мы рассмотрели влияние тестостерона, т.к. наш пациент мужского пола. Существует неоднозначное мнение о влиянии тестостерона на воспалительный процесс. Так, по данным Т.Н. Jones et al. уменьшение уровня тестостерона в крови способствует активизации синтеза противовоспалительного цитокина интерлейкина 10 у пациентов с различными сердечно-сосудистыми заболеваниями [15]. С другой стороны, тестостерон снижает липогенез в жировой ткани и печени, особенно при гиперхолестеринемии, способствуя синтезу таких ферментов, как эндотелиальная и печеночная липазы. Согласно результатам исследования I. van Pottelbergh et al. данный стероидный гормон положительно коррелирует с уровнем ХС ЛПВП и при увеличении содержания последнего происходит рост концентрации интерлейкина 10, обла-



дающего, как известно, противовоспалительными и антиатерогенными свойствами [16].

По данным R.K. W. Mailer et al. и M. Aguilar-Ballester et al. для активации и дифференцировки Т-лимфоцитов необходим сбалансированный метаболизм холестерина. В частности, эндогенный, недавно синтезированный холестерин, особенно на фоне гиперхолестеринемии [12], влияет на дифференцировку Th1-лимфоцитов путем кластеризации Т-клеточного рецептора в сторону возможной активации атерогенеза и/или ускорения его развития, а также долговременного развития возникшего инфекционного воспаления. Таким образом, накопление холестерина поддерживает воспалительную реакцию лейкоцитов, что ухудшает течение заболеваний, связанных с хроническим метаболическим воспалением, включая атеросклероз [12]. С другой стороны, экзогенный холестерин, поступающий в пищу, стимулирует дифференцировку Т-лимфоцитов в сторону образования Treg (Т-регуляторных), обладающих атеропротективными свойствами, что способствует последующему разрешению воспаления [17, 18]. Стоит отметить, что за 5 месяцев употребления продуктов, богатых холестерином (без применения лекарственных средств), в целом, показатели как Т-клеточного иммунитета, так и липидного профиля, которые были нарушены у пациента ранее, практически полностью восстановились, при этом не наблюдалось увеличения массы тела – вес пациента даже снизился на 4 кг при неизменности объема физических нагрузок (средней интенсивности).

## Заключение

Холестерин, поступающий с пищей, является элементом поддержания нормального иммунитета. Рациональное употребление продуктов, содержащих холестерин, обеспечивает адекватный иммунный ответ (в данном случае, восстановление Т-клеточного иммунитета) при борьбе с инфекционными агентами, а также обеспечивает нормализацию обмена липопротеинов.

## Литература

- Новиков, Д. К. Оценка иммунного статуса / Д. К. Новиков, В. И. Новикова. – Москва ; Витебск, 1996. – 282 с.
- Immunometabolic function of cholesterol in cardiovascular disease and beyond / L. Yvan-Charvet [et al.] // *Cardiovasc. Res.* – 2020 Jul. – Vol. 115, N 9. – P. 1393–1407.
- Cholesterol lowering modulates T cell function in vivo and in vitro / K.-Y. Chyu [et al.] // *PloS One.* – 2014 Mar. – Vol. 9, N 3. – e92095
- Fessler, M. B. Regulation of adaptive immunity in health and disease by cholesterol metabolism / M. B. Fessler // *Curr. Allergy Asthma Rep.* – 2015 Aug. – Vol. 15, N 8. – P. 48.
- Tail, A. R. Cholesterol, inflammation and innate immunity / A. R. Tail, L. Yvan-Charvet // *Nat. Rev. Immunol.* – 2015 Feb. – Vol. 15, N 2. – P. 104–116.
- Холестерин и иммунитет: клиничко-иммунологические параллели / М. Л. Доценко [и др.] // *Наука и инновации.* – 2015. – № 4. – С. 58–64.
- Юпатов, Г. И. Взаимосвязь уровня холестерина, липопротеидов и иммунитета к острым респираторным вирусным инфекциям / Г. И. Юпатов, Э. А. Доценко, А. А. Чиркин // *Иммунопатология. Аллергология. Инфектология.* – 2003. – № 2. – С. 31–39.
- Холестерин сыворотки крови и состояние системы иммунитета / Э. А. Доценко [и др.] // *Журн. микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии.* – 2002. – № 6. – С. 99–105.
- Cholesterol reduction and non-illness mortality: meta-analysis of randomised clinical trials / M. F. Muldoon [et al.] // *B. M. J.* – 2001 Jan. – Vol. 322, N 7277. – P. 11–15.
- Чиркин, А. А. Диагностика, лечение и профилактика сердечно-сосудистых заболеваний / А. А. Чиркин, В. В. Шваренко, Э. А. Доценко. – Минск : Триолета, 2003. – 390 с.
- Can LDL cholesterol be too low? Possible risks of extremely low levels / A. G. Olsson [et al.] // *J. Intern. Med.* – 2017 Jun. – Vol. 281, N 6. – P. 534–553.
- Relationship Between Neutrophil-Lymphocyte Ratio and Isolated Low High-Density Lipoprotein Cholesterol / E. Varol [et al.] // *Angiology.* – 2014 Aug. – Vol. 65, N 7. – P. 630–633.
- Heffner, L. J. The Reproductive System at a Glance / L. J. Heffner, D. J. Schust. – 4th ed. – Wiley-Blackwell, 2014. – 112 p.
- Glaser, R. Stress-induced immune dysfunction: implications for health / R. Glaser, J. K. Kiecolt-Glaser // *Nat. Rev. Immunol.* – 2005. – Vol. 5, N 3. – P. 243–251.
- Jones, T. H. Randomized controlled trials - mechanistic studies of testosterone and the cardiovascular system / T. H. Jones, D. M. Kelly // *Asian J. Androl.* – 2018 Mar-Apr. – Vol. 20, N 2. – P. 120–130.
- Differential contribution of testosterone and estradiol in the determination of cholesterol and lipoprotein profile in healthy middle-aged men / I. Van Pottelbergh [et al.] // *Atherosclerosis.* – 2003 Jan. – Vol. 166, N 1. – P. 95–102.
- Hypercholesterolemia induces differentiation of regulatory T cells in the liver / R. K. W. Mailer [et al.] // *Circ. Res.* – 2017 May. – Vol. 120, N 11. – P. 1740–1753.
- Impact of Cholesterol Metabolism in Immune Cell Function and Atherosclerosis / M. Aguilar-Ballester [et al.] // *Nutrients.* – 2020 Jul. – Vol. 12, N 7. – 2021.

Поступила 29.12.2020 г.

Принята в печать 15.02.2021 г.

## References

- Novikov DK, Novikova VI. Immune status assessment. Moscow, RF; Vitebsk, RB; 1996. 282 p. (In Russ.)
- Yvan-Charvet L, Bonacina F, Guinamard RR, Norata GD. Immunometabolic function of cholesterol in cardiovascular disease and beyond. *Cardiovasc Res.* 2019 Jul;115(9):1393-1407. doi: 10.1093/cvr/cvz127
- Chyu K-Y, Lio WM, Dimayuga PC, Zhou J, Zhao X, Yano J, et al. Cholesterol lowering modulates T cell function in vivo and in vitro. *PLoS One.* 2014 Mar;9(3):e92095. doi: 10.1371/journal.pone.0092095
- Fessler MB. Regulation of adaptive immunity in health and disease by cholesterol metabolism. *Curr Allergy Asthma Rep.* 2015 Aug;15(8):48. doi: 10.1007/s11882-015-0548-7
- Tail AR, Yvan-Charvet L. Cholesterol, inflammation and innate immunity. *Nat Rev Immunol.* 2015 Feb;15(2):104-16. doi: 10.1038/nri3793
- Dotcenko M, Alekseichik D, Pankratova Iu, Alekseichik S, Dotcenko K, Sankovich E. Cholesterol and immunity: clinical and immunological parallels. *Nauka Innovatsii.* 2015;(4):58-64. (In Russ.)
- Iupatov GI, Dotcenko EA, Chirkin AA. The relationship between cholesterol, lipoprotein levels and immunity to acute respiratory viral infections. *Immunopatologiya Allergologiya Infektologiya.* 2003;(2):31-9. (In Russ.)
- Dotcenko EA, Iupatov GI, Novikov DK, Chirkin AA. Serum cholesterol and the state of the immune system. *Zhurn Mikrobiologii Epidemiologii Immunobiologii.* 2002;(6):99-105. (In Russ.)
- Muldoon MF, Manuck SB, Mendelsohn AB, Kaplan JR, Belle SH. Cholesterol reduction and non-illness mortality: meta-analysis of randomised clinical trials. *BMJ.* 2001 Jan;322(7277):11-5. doi: 10.1136/bmj.322.7277.11
- Chirkin AA, Shvarenok VV, Dotcenko EA. Diagnostics, treatment and prevention of cardiovascular diseases. Minsk, RB: Trioleta; 2003. 390 p. (In Russ.)
- Olsson AG, Angelin B, Assmann G, Binder CJ, Björkhem I, Cedazo-Minguez A, et al. Can LDL cholesterol be too low? Possible risks of extremely low levels. *J Intern Med.* 2017 Jun;281(6):534-553. doi: 10.1111/joim.12614
- Varol E, Bas HA, Aksoy F, Ari H, Ozaydin M. Relationship Between Neutrophil-Lymphocyte Ratio and Isolated Low High-Density Lipoprotein Cholesterol. *Angiology.* 2014 Aug;65(7):630-3. doi: 10.1177/0003319713497992
- Heffner LJ, Schust DJ. The Reproductive System at a Glance. 4th ed. Wiley-Blackwell; 2014. 112 p.
- Glaser R, Kiecolt-Glaser JK. Stress-induced immune dysfunction: implications for health. *Nat Rev Immunol.* 2005;5(3):243-51. doi:10.1038/nri1571
- Jones TH, Kelly DM. Randomized controlled trials - mechanistic studies of testosterone and the cardiovascular system. *Asian J Androl.* 2018 Mar-Apr;20(2):120-130. doi: 10.4103/aja.aja\_6\_18
- Van Pottelbergh I, Braeckman L, De Bacquer D, De Backer G, Kaufman JM. Differential contribution of testosterone and estradiol in the determination of cholesterol and lipoprotein profile in healthy middle-aged men. *Atherosclerosis.* 2003 Jan;166(1):95-102. doi: 10.1016/s0021-9150(02)00308-8
- Maller RKW, Gisterå A, Polyzos KA, Ketelhuth DFJ, Hansson GK. Hypercholesterolemia induces differentiation of regulatory T cells in the liver. *Circ Res.* 2017 May;120(11):1740-1753. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.116.310054
- Aguilar-Ballester M, Herrero-Cervera A, Vinué Á, Martínez-Hervás S, González-Navarro H. Impact of Cholesterol Metabolism in Immune Cell Function and Atherosclerosis. *Nutrients.* 2020 Jul;12(7):2021. doi: 10.3390/nu12072021

Submitted 29.12.2020

Accepted 15.02.2021

## Сведения об авторах:

Прудников А.Р. – м.м.н., старший преподаватель кафедры госпитальной терапии и эндокринологии с курсом ФПК и ПК, Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9458-0867>;

Янченко В.В. – к.м.н., доцент кафедры клинической иммунологии и аллергологии с курсом ФПК и ПК, Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9355-8534>;

Сидоренко О.Ф. – врач лабораторной диагностики, Витебская областная клиническая больница;

Никольская О.В. – врач лабораторной диагностики, Витебская областная клиническая больница.

## Information about authors:

*Prudnikov A.R. – Master of Medical Sciences, senior lecturer of the Chair of Hospital Therapy & Endocrinology with the course of the Faculty for Advanced Training & Retraining, Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9458-0867>;*

*Yanchanka V.V. – Candidate of Medical Sciences, associate professor of the Chair of Clinical Immunology and Allergology with the course of the Faculty for Advanced Training & Retraining, Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9355-8534>;*

*Sidarenko O.F. – laboratory diagnosis specialist, Vitebsk Regional Clinical Hospital;*

*Nikolskaya O.V. – laboratory diagnosis specialist, Vitebsk Regional Clinical Hospital.*

**Адрес для корреспонденции:** Республика Беларусь, 210009, г. Витебск, пр. Фрунзе, 27, Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет, кафедра госпитальной терапии и эндокринологии с курсом ФПК и ПК. E-mail: [prudnikov92@yandex.ru](mailto:prudnikov92@yandex.ru) – Прудников Александр Русланович.

**Correspondence address:** Republic of Belarus, 210009, Vitebsk, 27 Frunze ave., Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University, Chair of Hospital Therapy & Endocrinology with the course of the Faculty for Advanced Training & Retraining. E-mail: [prudnikov92@yandex.ru](mailto:prudnikov92@yandex.ru) – Alexander R. Prudnikov.

## ДЕЛЕГАЦИЯ ВГМУ НА VI ВСЕБЕЛОРУССКОМ НАРОДНОМ СОБРАНИИ



С 11 по 12 февраля 2021 года в Минске состоялось VI Всебелорусское народное собрание. В качестве делегатов в нём участвовали и представители ВГМУ: ректор университета Анатолий Тадеушевич Щастный; декан стоматологического факультета Иван Юрьевич Карпук и студентка 6 курса лечебного факультета, председатель Совета студентов Анна Козлова.

В своем докладе Президент страны А.Г.Лукашенко подробно остановился на основных направлениях развития в экономике, политике, социальной и духовной сферах на 2021-2025 годы. Приоритетом в системе здравоохранения

станут повышение доступности и качества медицинской помощи; эпидемиологическая безопасность и снижение уровня заболеваемости населения; развитие инфраструктуры здравоохранения; цифровизация медицины; повышение эффективности управления и финансовой устойчивости здравоохранения.

Отрадно было услышать упоминание родного университета в докладе премьер-министра Беларуси Романа Головченко: «Планируется развитие новых высокотехнологичных отраслей, среди которых биоиндустрия и фармацевтика. За последние 3 года разработано более 150 новых биотехнологий, тест-системы для диагностики бактериальных инфекций, биомедицинские клеточные продукты для лечения отдельных видов онкологий и многое другое. Все это – национальное достижение Беларуси и заслуга белорусских ученых. Правительством утверждена стратегия развития отрасли. Начинаем выпускать новые остро востребованные лекарственные препараты: гормональные, иммунодепрессанты, для лечения онкологических заболеваний. Успешный пример есть в Витебской области, где сформирован медико-фармацевтический кластер на базе 10 организаций, включая 2 университета и технопарк. Его ядро – Витебский медицинский университет, где готовят кадры для фармации. И это модель для будущего. В результате удовлетворим внутренний спрос и обеспечим 50% продаж лекарств на экспорт».

Не осталась без внимания тема привлечения молодежи к обсуждению и решению основных направлений развития государства. И этот вопрос является особенно актуальным, так как он был затронут всеми молодыми спикерами.

Не случайно ключевыми словами собрания стали «Единство. Развитие. Независимость». Важность этих понятий раскрывалась в выступлениях всех докладчиков. Для того, чтобы оставаться независимыми и самим определять свою судьбу, требуется работа всего нашего народа. Развитие и совершенствование невозможны без единства и взаимопонимания, которые всегда были отличительной чертой белорусов.

## СОТРУДНИЧЕСТВО КАФЕДРЫ ПАТОЛОГИЧЕСКОЙ ФИЗИОЛОГИИ ВГМУ И САРАТОВСКОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО МЕДИЦИНСКОГО УНИВЕРСИТЕТА им. В.И. РАЗУМОВСКОГО

С 14 по 17 декабря 2020 г. кафедрой патологической физиологии им. акад. А.А. Богомольца совместно с Саратовским государственным медицинским университетом им. В.И. Разумовского проводилась студенческая межфакультетская олимпиада с международным участием по патологии «Грани патологии» для студентов медико-профилактических и фармацевтических факультетов, в которой, в числе 66 участников из различных ВУЗов Российской Федерации, были и студенты 4 курса фармацевтического факультета нашего университета. Все призовые места заняты студентами нашего университета. Поздравляем победителей и желаем им дальнейших успехов!

Кроме того, 18 декабря заведующей кафедрой Саратовского государственного медицинского университета им. В.И. Разумовского, д.м.н., доцентом Г.А. Афанасьевой с использованием дистанционных

образовательных технологий была прочитана лекция на тему «Патофизиология опухолевого роста» студентам 3 курса лечебного факультета нашего университета. Высокий профессионализм лектора и доступная подача современной весьма сложной информации, касающейся вопросов этиологии и патогенеза злокачественных новообразований, вызвали большой интерес студентов.

## СТУДЕНТЫ ВГМУ ПРИНЯЛИ УЧАСТИЕ В РАБОТЕ 3 МЕЖДУНАРОДНОГО СТУДЕНЧЕСКОГО ЭКОЛОГИЧЕСКОГО КОНГРЕССА StEC-2020

Студенты ВГМУ – члены студенческого научного кружка кафедры общей, физической и коллоидной химии Абдул Монайем, Рахман Махфузур, Мукеленге Бафакулера Розине – приняли участие в работе 3-его Международного студенческого экологического конгресса StEC-2020 (20-21 ноября 2020 г.), организаторами которого были химический кластер БГУ и студенческий проект «Виртуозы науки БГУ».

Студенты 3 курса факультета подготовки иностранных граждан (специальность «Лечебное дело») Рахман Махфузур и Абдул Монайем выступили с докладом «Arsenic pollution as an important environmental problem in Bangladesh», который был признан лучшим в секции «Международное сотрудничество и культура». Они были награждены Дипломом за лучший доклад в секции.

Студентка II курса факультета подготовки иностранных граждан (специальность «Фармация») Мукеленге Бафакулера Розине выступила с докладом «Medicinal plants of Congo» и получила сертификат участника Международного студенческого экологического конгресса StEC-2020. Научным руководителем команды студентов являлась заведующая кафедрой общей, физической и коллоидной химии З.С.Кунцевич. Поздравляем наших кружковцев с успешным выступлением на 3-ем Международном студенческом экологическом конгрессе и желаем творческих успехов и новых научных достижений.

## ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ЛАЗЕРНОЙ МИКРОДИССЕКЦИИ И КАТАПУЛЬТИРОВАНИЕ СИСТЕМЫ PALM НА БАЗЕ ИНВЕРТИРОВАННОГО МИКРОСКОПА AXIO OBSERVER 7



На базе химико-фармацевтической лаборатории ВГМУ с помощью инженеров Минска и Москвы компании Carl Zeiss Optec Vertriebs GmbH осуществлен монтаж, наладка и ввод в эксплуатацию новейшего прибора лазерной микродиссекции и катапультирование системы PALM на базе инвертированного микроскопа Axio Observer 7. В Республике Беларусь аналогичный прибор используется только в молекулярно-генетической лаборатории канцерогенеза ГУ «РНПЦ онкологии и медицинской радиологии

им. Н.Н. Александрова». Уникальная лазерная технология обеспечивает микрохирургическую обработку и выделение микроскопических образцов с абсолютной точностью и без риска загрязнения за счет катапультирования под действием лазера и передачу нужных объектов в микроконтейнер для дальнейшего анализа. Система PALM предназначена для сбора точно определенных клеток (живых и фиксированных), площадей клеток для использования в патологической анатомии, онкологии, судебной экспертизе, протеомике, цитогенетике, геномной инженерии, ботанике и в других областях медицинских, биологических и фармацевтических исследований.

Успешное освоение новой технологии лазерной микродиссекции системы PALM в сочетании с системой высокопроизводительного секвенирования NextSeq 550 представляет перспективным направлением в области молекулярно-генетических исследований и клеточных технологий. У студентов и сотрудников университета появилась возможность с использованием уникальных приборов раскрыть свой потенциал и сделать шаг навстречу новым открытиям.

## ПРАВИЛА ДЛЯ АВТОРОВ

Журнал «Вестник ВГМУ» публикует статьи на русском и английском языках по следующим отраслям науки:

- медицинским;
- биологическим (медико-биологические аспекты);
- фармацевтическим;
- психологии и педагогике.

Вне очереди публикуются научные статьи аспирантов последнего года обучения (включая статьи, подготовленные ими в соавторстве), при условии их полного соответствия требованиям, предъявляемым к научным публикациям издания.

Статья должна быть тщательно отредактирована и выверена. Рукопись должна быть визирована всеми авторами. Это означает, что за правильность приведенных данных ответственность несут авторы. В исключительных случаях, для оценки достоверности результатов, редакция может запросить копии документов, подтверждающих представляемые материалы.

Объем полноразмерной оригинальной статьи должен составлять не менее 14 000 печатных знаков, включая пробелы между словами, знаки препинания, цифры и другие.

При подготовке текста статьи на компьютере необходимо использовать программу Microsoft Word. Размеры полей: сверху – 2 см; снизу – 2 см; слева – 2 см; справа – 2 см. Рукопись печатается через двойной интервал с выделенными жирным заголовками и подзаголовками. Все страницы, начиная с титульной, должны быть последовательно пронумерованы.

В статье следует применять только общепринятые символы и сокращения. При необходимости их использования аббревиатуру в тексте необходимо расшифровывать при первом упоминании (это относится также и к резюме). Сокращения в названии можно использовать только в тех случаях, когда это абсолютно необходимо. Все величины выражаются в единицах Международной Системы (СИ). Применяются только международные непатентованные названия лекарственных средств.

### Структура рукописи

Рукопись статьи должна включать следующие части:

1. Титульный раздел
2. Структурированное резюме и ключевые слова на русском и английском языках
3. Введение
4. Материал и методы
5. Результаты
6. Обсуждение
7. Заключение
8. Литература
9. Рисунки и таблицы

#### 1. Титульный раздел должен содержать:

Название статьи – должно быть максимально кратким, информативным и точно определять содержание статьи.

Фамилию и инициалы автора (авторов) – при написании авторов статьи фамилию следует указывать до инициалов имени и отчества;

Официальное название учреждений, в которых выполнялась работа.

Сведения об авторах – указываются полностью фамилии, имена, отчества авторов, ученые степени и звания, должности, место работы (название учреждения, кафедры, отдела), ORCID (если есть). Все лица, обозначенные как авторы, должны соответствовать критериям этого понятия (см. рекомендации ICJME).

Адрес для корреспонденции – приводятся рабочий почтовый адрес места работы или домашний адрес, телефоны, электронный адрес того автора, с кем следует вести редакционную переписку. Адрес для корреспонденции публикуется вместе со статьей.

Благодарности – авторы могут выразить благодарности людям или организациям, способствовавшим публикации рукописи в журнале, но не являющимся её авторами (научное руководство или консультация, критический анализ исследования, сбор данных, финансирование, техническое и лингвистическое редактирование, предоставление пациентов для участия в исследовании и их лечение, предоставленные данные, в том числе рисунки и пр.). Хорошим тоном считается выражение благодарности анонимным рецензентам.

Информацию об источнике поддержки в виде грантов, оборудования, лекарственных препаратов: указывается источник финансирования как научной работы, так и процесса публикации статьи (фонд, коммерческая или государственная организация, частное лицо и др.).

Наличие / отсутствие конфликта интересов. Наиболее частая причина возникновения конфликта интересов – финансовые отношения. Возможны и другие причины: личные отношения, научное соперничество.

Количество рисунков и таблиц. Если количество рисунков и таблиц не указано на титульной странице, редакции и рецензентам бывает трудно определить, все ли рисунки и таблицы, которые должны сопровождать рукопись, были в неё включены.

**2. Структурированное резюме** оригинальной научной статьи должно точно отражать содержание статьи и быть пригодным для опубликования отдельно от нее, содержать ключевые слова, позволяющие индексировать данную статью.

Резюме должно включать разделы «Цель», «Материал и методы», «Результаты», «Заключение», «Ключевые слова» (не менее 6) и «Источники финансирования» и быть представленным на двух языках: русском и английском. Объем резюме должен составлять около 200-250 слов.

Резюме других видов статей (краткие сообщения, обзоры, случаи из практики) не структурируются, объем их должен составлять не менее 100-150 слов.

В резюме на английском языке обязательно указываются фамилии и инициалы авторов на английском языке. Резюме статей, ключевые слова на русском и английском языках, информация об авторах, а также приставные библиографические списки размещаются на сайте журнала и отсылаются редакцией в электронные информационные базы для индексации.

**3. В разделе «Введение»** статьи описывается состояние изучаемой проблемы и её актуальность. Указывается цель исследования либо гипотеза, проверяемая исследованием или наблюдением и, если необходимо, указана ее связь с важными научными и практическими направлениями. Анализ источников, использованных при подготовке научной статьи, должен свидетельствовать о знании автором (авторами) статьи научных достижений в соответствующей области. Обязательными являются ссылки на работы других авторов. При этом должны присутствовать ссылки на публикации последних лет, включая зарубежные публикации в данной области.

**4. Раздел «Материал и методы»** должен содержать детальную характеристику объектов исследований, описание использованных методов, оборудования, диагностических и лечебных технологий. На методики исследований должны быть представлены ссылки.

При описании экспериментов, проводившихся на людях, авторы должны указать, соответствовала ли процедура этическим стандартам локального и национального комитета, отвечающего за эксперименты на людях, а также требованиям Хельсинкской Декларации Всемирной медицинской ассоциации. При описании экспериментов на животных авторы должны указать, действовали ли они в соответствии с локальными и национальными требованиями к использованию и обращению с лабораторными животными.

**5. Раздел «Результаты»** должен подробно освещать содержание исследований и их результаты, которые следует отражать, максимально используя рисунки и таблицы. Важно, чтобы проиллюстрированная информация не дублировала уже приведенную в тексте. При необходимости раздел может делиться на подразделы (с разъяснительными заголовками).

Представленные в статье результаты желательно сопоставить с предыдущими работами в этой области как автора, так и других исследователей. Такое сравнение дополнительно раскроет новизну проведенной работы, придаст ей объективности.

Формулы, уравнения и сноски, встречающиеся в статье, должны быть пронумерованы в соответствии с порядком цитирования в тексте.

6. В разделе **«Обсуждение»** полученные результаты должны быть обсуждены с точки зрения их научной новизны и сопоставлены с соответствующими известными данными.

7. **Заключение.** Должны быть четко сформулированы выводы и в сжатом виде отразить основные полученные результаты с указанием их новизны, преимуществ и возможностей применения. Выводы необходимо сопоставить с целями исследования.

8. **Литература** оформляется в соответствии с ГОСТом – 7.1-2003. Ссылки нумеруются согласно порядку цитирования в тексте. Порядковые номера ссылок должны быть написаны внутри квадратных скобок, например: [1, 2].

В оригинальных статьях желательно цитировать не более 15 источников, в обзорах литературы – не более 50. Желательно цитировать источники, опубликованные в течение последних 5-7 лет. В статье не допускаются ссылки на авторефераты диссертационных работ или сами диссертации, т.к. они являются рукописями. Ссылки на тезисы и статьи в малотиражных региональных сборниках можно использовать только при крайней необходимости.

Авторы несут полную ответственность за точность и полноту всех ссылок, и точность цитирования первоисточников.

Редакция с целью максимального снижения неполноты или неточности информации в приводимых пристатейных списках литературы проводит в обязательном порядке проверку всех ссылок и сама оформляет References (литературу на английском языке) в формате Vancouver.

9. **Таблицы, иллюстрации и рисунки** должны быть набраны в отдельном файле, через один интервал, иметь название и подстрочные примечания (если необходимо). Убедитесь, что каждая таблица и рисунок процитированы в тексте. В названиях таблиц и рисунков не должно быть сокращений. Непосредственно в таблицах (в заголовках строк или столбцов) или в их названии указывается, какие статистические показатели приводятся.

Формат рисунка может быть TIFF, JPEG, CDR; разрешение не менее 300 dpi. Диаграммы, выполненные в приложении MS Excel, необходимо представлять в формате .xls, что позволит провести их допечатную подготовку. Диаграммы печатаются при помощи монохромной печати, поэтому при их оформлении предпочтительно использовать узорную заливку объектов и различный характер линий.

---

Подписано в печать 15.02.2021 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.