



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

2019

Том 18

№4

(июль-август)



МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ
ВИТЕБСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ

ВЕСТНИК

Витебского государственного медицинского университета

Том 18

№4 (июль-август)

2019

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

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

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

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

Главный редактор:

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

Редакционная коллегия:

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

Редакционный совет:

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

Секретариат:

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

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

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

V E S T N I K

of Vitebsk State Medical University

(Vestnik Vitebskogo Gosudarstvennogo Meditsinskogo Universiteta)

Vol. 18

No. 4 (July-August)

2019

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

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

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

Editor-in-chief:

Shchastniy Anatoliy Tadeushevich – PhD, MD (Medicine), professor.

Editorial board:

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

Editorial council:

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

Secretariate:

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

Editorial office: 210009, Vitebsk, Frunze ave., 27, phone: (0212) 55-10-95, <http://vestnik.vsmu.by>, e-mail: vestnik.vsmu@tut.by

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

© Vitebsk State Medical University, 2019

СОДЕРЖАНИЕ

Обзор

Беляева Л.Е., Павлюкевич А.Н.
Раннее программирование заболеваний человека и использование нутрицевтиков с профилактической целью: фокус на рыбий жир. Обзор литературы. Часть 1

Выхристенко Л.Р., Счастливенко А.И., Прокошина Н.Р.
Влияние системы иммунитета на формирование артериальной гипертензии. Обзор литературы

Ткаченко А.С.
Инфламасомы и пироптоз эпителиальных клеток кишечника: вклад в развитие болезни Крона и неспецифического язвенного колита

Микробиология

Гончарова А.И., Окулич В.К., Земко В.Ю., Сенькович С.А.
Антимикробная активность лизоцима как фактор неспецифической резистентности

Внутренние болезни

Прищепенко В.А.
Ферментативные активности сыворотки крови для диагностики и дифференциальной диагностики хронических диффузных заболеваний печени

Дикарева Е.А.
Влияние приверженности антисекреторной терапии на риск развития гастропатии, индуцированной приёмом нестероидных противовоспалительных средств

Педиатрия

Хоха Р.Н.
Факторы риска формирования бронхиальной астмы у детей Гродненской области

Паразитология

Побяржин В.В.
Изменение экспрессии маркеров в ткани глиомы крыс при аскаридозе

Наркология

Мужиченко В.А., Кирпиченко А.А.
Употребление алкоголя с вредными

CONTENTS

Review

7 Belyaeva L.E., Pauliukevich A.N.
The early programming of human diseases and the application of nutraceuticals for their prevention: focus on fish oil. Literature review. Part I

17 Vykhrystsenka L.R., Schastlivenko A.I., Prakoshyna N.R.
The immune system impact on the development of arterial hypertension. Literature review

28 Tkachenko A.S.
Inflammasomes and pyroptosis of intestinal epithelial cells: their contribution to Crohn's disease and ulcerative colitis

Microbiology

40 Goncharova A.I., Okulich V.K., Ziamko V.Y., Senkovich S.A.
Antimicrobial activity of lysozyme as a nonspecific resistance factor

Internal medicine

46 Pryshchepenka V.A.
Blood serum enzymatic activities for the diagnosis and differential diagnosis of chronic diffuse liver diseases

60 Dikareva E.A.
The influence of antisecretory therapy adherence on the risk of the development of gastropathy induced by the administration of nonsteroidal anti-inflammatory agents

Pediatrics

67 Khokha R.N.
Risk factors of bronchial asthma development in children residing in Grodno region

Parasitology

74 Pabiarzhyn V.V.
Changes in the expression of markers in the glioma tissue of rats with ascariasis

Narcology

81 Muzhychenka U.A., Kirpichenka A.A.
Harmful consequences of alcohol use by female

последствиями подростками женского пола:
актуальные вопросы диагностики и лечения

adolescents: topical issues of diagnosis and treatment

Стоматология

**Кабаньков А.В., Иванов А.С.,
Мнацаканов С.С., Румакин В.П., Резниченко А.С.**
Особенности направленной регенерации костной
ткани при использовании резорбируемых мембран
на основе поливинилового спирта с добавлением
фуллеренов C₆₀

Dentistry

**91 Kaban'kov A.V., Ivanov A.S., Mnatsakanov S.S.,
Rumakin V.P., Reznichenko A.S.**
The peculiarities of the guided bone tissue
regeneration on using resorbable membranes
based on polyvinyl alcohol with the addition of C₆₀
fullerenes

**Технология получения лекарств.
Фармацевтическая химия, фармакогнозия.
Организация фармацевтического дела**
**Климашевич В.Б., Казючиц О.А., Жебентяев А.И.,
Гудович В.В., Насенникова Е.Е.**
Технологические аспекты фармацевтической
разработки лекарственного средства на основе
ранолазина

**98 Klimashevich V.B., Kazyuchits O.A.,
Zhebentyaev A.I., Gudovich V.V., Nasennikova E.E.**
Technological aspects of the pharmaceutical
development of the ranolazine-based drug

Педагогика и психология высшей школы
Лоллини В.А., Величинская О.Г., Дикарева Е.А.
Этические комитеты и их роль в сфере
медицинских технологий

113 Lollini V.A., Velichinskaya O.G., Dikareva E.A.
Ethics committees and their role in the sphere of
medical technologies

Новости

119 News

Правила для авторов

122 Instructions for authors

РАННЕЕ ПРОГРАММИРОВАНИЕ ЗАБОЛЕВАНИЙ ЧЕЛОВЕКА И ИСПОЛЬЗОВАНИЕ НУТРИЦЕВТИКОВ С ПРОФИЛАКТИЧЕСКОЙ ЦЕЛЬЮ: ФОКУС НА РЫБИЙ ЖИР. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ. ЧАСТЬ 1

БЕЛЯЕВА Л.Е., ПАВЛЮКЕВИЧ А.Н.

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

Вестник ВГМУ. – 2019. – Том 18, №4. – С. 7-16.

THE EARLY PROGRAMMING OF HUMAN DISEASES AND THE APPLICATION OF NUTRACEUTICALS FOR THEIR PREVENTION: FOCUS ON FISH OIL. LITERATURE REVIEW. PART I

BELYAEVA L.E., PAULIUKEVICH A.N.

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

Vestnik VGMU. 2019;18(4):7-16.

Резюме.

В первой части обзора проанализированы имеющиеся в научной литературе результаты экспериментальных, клинических и эпидемиологических исследований, посвященных изучению последствий, возникающих при действии стрессоров в пренатальном периоде. Рассмотрены основные механизмы программирования болезней у организмов, чьи матери во время беременности подвергались действию разного рода стрессоров. Предложен подход к минимизации последствий пренатального стресса с помощью нутрицевтика рыбьего жира, содержащего длинноцепочечные омега-3 полиненасыщенные жирные кислоты – эйкозапентаеновую (ЭПК) и докозагексаеновую (ДГК). В первой части обзора обсуждены пути и особенности метаболизма этих полиненасыщенных жирных кислот в организме.

Ключевые слова: пренатальный стресс, раннее программирование заболеваний человека, эпигенетика, длинноцепочечные омега-3 полиненасыщенные жирные кислоты.

Abstract.

In the first part of this review the results of experimental, clinical and epidemiological investigations devoted to the study of the consequences of stressors action in the prenatal period have been analyzed. The basic mechanisms of diseases programming in the organisms whose mothers were exposed to various stressors action during pregnancy have been considered. An approach to minimize negative outcomes caused by the action of stressors on the body in the prenatal period with fish oil nutraceutical containing long-chain omega-3 polyunsaturated fatty acids – eicosapentaenoic acid (EPA) and docosahexaenoic acid (DHA) has been proposed. Metabolism peculiarities of these polyunsaturated fatty acids in the body have been discussed in the first part of the review as well.

Key words: prenatal stress, early programming of human diseases, epigenetics, long-chain omega-3 polyunsaturated fatty acids.

Теория внутриутробного программирования заболеваний в настоящее время находит подтверждение в результатах экспериментальных и клинических исследований, посвященных изучению последствий пренатального стресса (которых насчитывается около 33 000 за последние 10

лет, по данным PubMed). Особую актуальность проблеме пренатального программирования болезней придает сложившаяся демографическая обстановка в Республике Беларусь, для преодоления которой утверждена Государственная программа «Здоровье народа и демографическая

безопасность Республики Беларусь» [1], направленная на улучшение физического, в том числе репродуктивного, здоровья населения, стабилизацию численности населения, увеличение ожидаемой продолжительности жизни и улучшение ее качества, что подразумевает не только изменение количественных показателей рождаемости, но и поддержание адекватного качества жизни беременных женщин для рождения здоровых детей и уменьшения риска развития у них заболеваний в более поздние периоды онтогенеза.

Цель – проанализировать имеющиеся в научной литературе сведения о возможности предупреждения последствий пренатального стресса с помощью компонентов рыбьего жира.

1. Общие сведения о последствиях пренатального стресса

Воздействие неблагоприятных факторов окружающей среды на организм женщины во время беременности сопровождается нарушением аллостаза беременной и может негативно влиять на здоровье ее будущих детей. Исследования о последствиях развития беременности в неблагоприятных условиях ведутся со второй половины прошлого века, но окончательно теорию пренатального программирования сформулировал в 1998 году английский врач-эпидемиолог D. J. Barker. Согласно этой теории, стрессоры, действующие на организм беременной, предрасполагают к развитию заболеваний у ее потомков в более поздние периоды их онтогенеза [2]. В качестве факторов, вызывающих программирование заболеваний во внутриутробном периоде, могут выступать: 1) факторы, определяемые состоянием здоровья матери: тип ее конституции; отклонения от нормы массы тела; наличие хронической экстрагенитальной патологии; характер протекания беременности; морфофункциональные особенности плаценты; возникновение острых заболеваний во время беременности; 2) факторы внешней среды: несбалансированное питание; вредные привычки; проживание в неблагоприятных экологических условиях; профессиональные вредности; поступление в организм веществ, нарушающих функционирование эндокринной системы; попадание в организм солей тяжелых металлов; прием некоторых лекарственных средств до начала беременности и в течение беременности, а также действие физических патогенных факторов; 3) факторы, определяемые генотипом будущего ребенка (по-

лиморфизм генов, приводящий к повышению чувствительности плода к действию неблагоприятных факторов) [3]. Выявлена взаимосвязь между действием этих факторов окружающей среды на беременных и развитием у их детей заболеваний сердечно-сосудистой системы, например артериальной гипертензии, ишемической болезни сердца, метаболического синдрома, хронической болезни почек [4]. В ряде исследований было выявлено, что наличие у беременной сахарного диабета, сердечно-сосудистой патологии, ожирения, инфекционных заболеваний, депрессивных расстройств ассоциируется с программированием у ее потомков синдрома гиперреактивности с дефицитом внимания, повышенной тревожности, депрессии, аутизма, шизофрении [5, 6]. Причем, первым подтверждением взаимосвязи ментальных расстройств потомков и материнского стресса были данные о последствиях голода в Западной Голландии во время Второй мировой войны, когда у населения, в том числе и беременных женщин, в период с марта по апрель 1945 года (пик голода) калорийность рациона составляла около 500-1000 ккал в сутки [7]. В 18-летнем возрасте у детей, родившихся у таких женщин, чаще встречались шизоидные расстройства личности, а в зрелом возрасте – шизофрения. Была выявлена связь между пренатальным стрессом и нарушениями репродуктивной системы потомства обоих полов [8, 9]. Результаты когортных исследований продемонстрировали взаимосвязь между материнским стрессом во время беременности и развитием у потомков аллергических заболеваний [10]. В ходе клинических исследований также было обнаружено укорочение длины теломер в лейкоцитах пуповинной крови преимущественно у лиц женского пола при действии стрессоров на их матерей во время беременности [11]. Кроме этого, материнский стресс увеличивает риск развития опухолей у потомков [12]. Таким образом, действие стрессоров в пренатальном периоде имеет серьезные неблагоприятные медицинские и социальные последствия, что требует дальнейшего изучения методов профилактики и коррекции возникающих нарушений у потомков.

2. Основные механизмы раннего программирования заболеваний при пренатальном стрессе

В основе пренатального программирования заболеваний, в том числе, лежит изменение экспрессии генов плода (рис. 1). Эпигенетиче-



Рисунок 1 – Эпигенетические механизмы изменения экспрессии генов плода при пренатальном программировании заболеваний человека.

ские механизмы являются, пожалуй, важнейшими механизмами химической модификации ДНК, которые не влияют на последовательность нуклеотидов, но изменяют экспрессию генов в результате метилирования ДНК, модификации гистонов, действия микро-РНК, что, в свою очередь, приводит к ремоделированию хроматина. Следует обратить внимание на то, что возникшие эпигенетические метки могут «передаваться» через поколения также посредством стресс-индуцированных модификаций митохондриальной ДНК [13]. Метилирование ДНК – наиболее изученная эпигенетическая метка, характеризующаяся присоединением метильной группы в 5-м положении цитозина в динуклеотидах цитозин-гуанозиновых последовательностей ДНК (CpG) под влиянием ДНК-метилтрансфераз. Ранее считалось, что метилирование цитозина в промоторах генов, как правило, сопровождается подавлением транскрипции посредством двух механизмов – нарушения связывания факторов транскрипции с соответствующими участками ДНК и предотвращения транскрипции за счет локального изменения структуры хроматина [14]. Однако результаты последующих исследований расширили представление о процессах метилирования ДНК. Так, было выявлено, что метильные группы присоединяются к ДНК и вне CpG-динуклеотидных участков [15]. Кроме этого, в регуляции активности генов могут быть задей-

ствованы белки транслокации (Tet), ответственные за удаление метилированных цитозиновых остатков [16]. Немаловажное значение имеет метилирование ДНК при альтернативном сплайсинге [17] и определении структуры хроматина [18].

Механизмы посттрансляционной модификации гистонов еще более разнообразны и сложны, чем метилирование ДНК, и преимущественно влияют на состояние хроматина [19] посредством контроля конформационной структуры ДНК в ядре, так как гистоны формируют нуклеосому, вокруг которой дважды «накручена» нить ДНК. Белки, связанные с гистонами, можно подразделить на три семейства – «пишущее устройство», «читающее устройство» и «стирающее устройство». Представители первого семейства – гистоновые ацетилтрансферазы, гистоновые метилтрансферазы, киназы и др. – стимулируют модификацию гистонов. Белки, входящие в «читающее устройство», как правило, не обладают ферментативной активностью и содержат домены, распознающие специфические гистоновые модификации. Эти белки либо привлекают факторы транскрипции, либо активируют механизмы восстановления ДНК. Белки третьей группы удаляют гистоновые модификации, например ацетильные и метильные группы от соответствующих аминокислотных остатков гистонов. Модификации гистонов весьма разнообразны и включают метилирование [20], фосфорилирование [21], убиквитинирование [22], гликозилирование [23], а также ацетилирование, пропионилирование, бутирирование, кротонилирование и сумоилирование [24]. Подобные структурные модификации гистонов сопровождаются изменением химической структуры нуклеосомы, что, в свою очередь, отражается на активности генов.

Динамичность эпигенетических меток, а также высокая чувствительность эпигенома к неблагоприятным факторам окружающей среды (например, материнскому стрессу, ксенобиотикам, наркотикам, токсинам) во время раннего внутриутробного развития обуславливают большую уязвимость этого периода онтогенеза для эпигенетических изменений, поскольку именно на данном этапе происходит обширное эпигенетическое перепрограммирование (приобретение эпигеномом человека плюрипотентности) и эпигенетическое программирование (эпигенетические изменения, регулирующие клеточную дифференцировку) для специфической клеточной и тканеспецифической

экспрессии генов. Предымплантационное эпигенетическое перепрограммирование возникает на стадии зиготы и продолжается до стадии бластоцисты; включает в себя ремоделирование метилирования ДНК и модификации гистонов [25]. Такие изменения необходимы для установления тотипотентности зиготы, инициации экспрессии эмбриональных генов и раннего развития эмбриона [25]. Поэтому вмешательство в эпигенетическое перепрограммирование во время раннего эмбриогенеза может значительно повлиять на раннее программирование экспрессии генов в развивающемся эмбрионе [26].

На последующих этапах внутриутробного развития немаловажная роль в механизмах пренатального программирования заболеваний принадлежит плаценте. Снижение массы плаценты ассоциируется с уменьшением массы плода, что, кстати, является маркером пренатального стресса [27]; при этом увеличивается риск развития различных форм патологии у таких организмов в более поздние периоды онтогенеза [28]. Следует отметить, что плацента не только регулирует доставку нутриентов в системе мать-плод, но и является источником гормонов, влияющих на метаболические процессы и матери и плода. Так, плацентарный кортикотропин-рилизинг гормон (КРГ), который по структуре, иммунореактивности и биореактивности схож с гипоталамическим КРГ, регулирует продукцию гормонов стресса на протяжении всей беременности [29]. Повышенное содержание плацентарного КРГ в плазме крови матери стимулирует выработку адренокортикотропного гормона передней долей гипофиза и, как следствие, увеличивает продукцию глюкокортикоидов, которые по механизму положительной обратной связи стимулируют экспрессию плацентарного КРГ [30]. Глюкокортикоиды, концентрация которых при беременности повышается в 3-5 раз, играют важную роль особенно на последних неделях внутриутробного развития, поскольку необходимы для окончательного формирования органов [31]. Воздействие же гораздо больших концентраций глюкокортикоидов в 1-м и 2-м триместрах беременности может приводить к негативным последствиям для плода [32]. Примечательно, что у плода есть своеобразная «защита» от избыточного количества глюкокортикоидов в виде плацентарного фермента 11-β-гидроксистероиддегидрогеназы 2 класса (11-β-ГСДГ2), который трансформирует кортизол в менее активный кортизон, не воздействующий на глюкокортико-

идные рецепторы [33]. Активность 11-β-ГСДГ2 может снижаться при действии на организм матери катехоламинов [34], гипоксии [35], провоспалительных цитокинов [36], что может иметь место, в частности, при тревожно-депрессивных расстройствах у матерей во время беременности [37]. Воздействие больших концентраций глюкокортикоидов на плод сопровождается нарушением чувствительности глюкокортикоидных рецепторов и изменением функционирования гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы, что в прогностическом плане увеличивает риск развития сердечно-сосудистых и метаболических заболеваний, патологии иммунной и репродуктивной систем, а также расстройств ЦНС и нарушения стресс-реактивности организма в постнатальном периоде [38, 39].

Неправильное формирование и развитие плаценты на всех этапах беременности может быть обусловлено дефектами плацентарных сосудов и трофобласта [40]. Неадекватное питание матери и гипоксия являются основными факторами, приводящими к нарушению развития плаценты, что в дальнейшем сопровождается изменением экспрессии плацентарных генов [41]. Следует отметить, что непродолжительная гипоксия физиологична и не представляет угрозы для онтогенеза [42], в то время как продолжительный период кислородного голодания может приводить к гипоксическому повреждению трофобласта, последующему развитию окислительного и нитрозирующего стресса, нарушению развития плаценты и ее функций, что, в конечном итоге, может вносить существенный вклад в механизмы пренатального программирования патологии плода [41].

Помимо модификации эпигенома, существуют и другие универсальные механизмы пренатального программирования заболеваний (рис. 2) [3].

Одним из перспективных подходов к минимизации последствий пренатального стресса может быть использование нутрицевтиков – веществ природного происхождения, содержащихся в продуктах питания и обладающих лечебными свойствами. Термин «нутрицевтика» был предложен врачом, основателем и председателем Фонда инновационной медицины Stephen L. DeFelice в 1979 году, который осуществил агглютинацию понятий «nutrition» (питание) и «pharmaceutical» (фармацевтический) [43]. Одним из эффективно действующих нутрицевтиков является рыбий

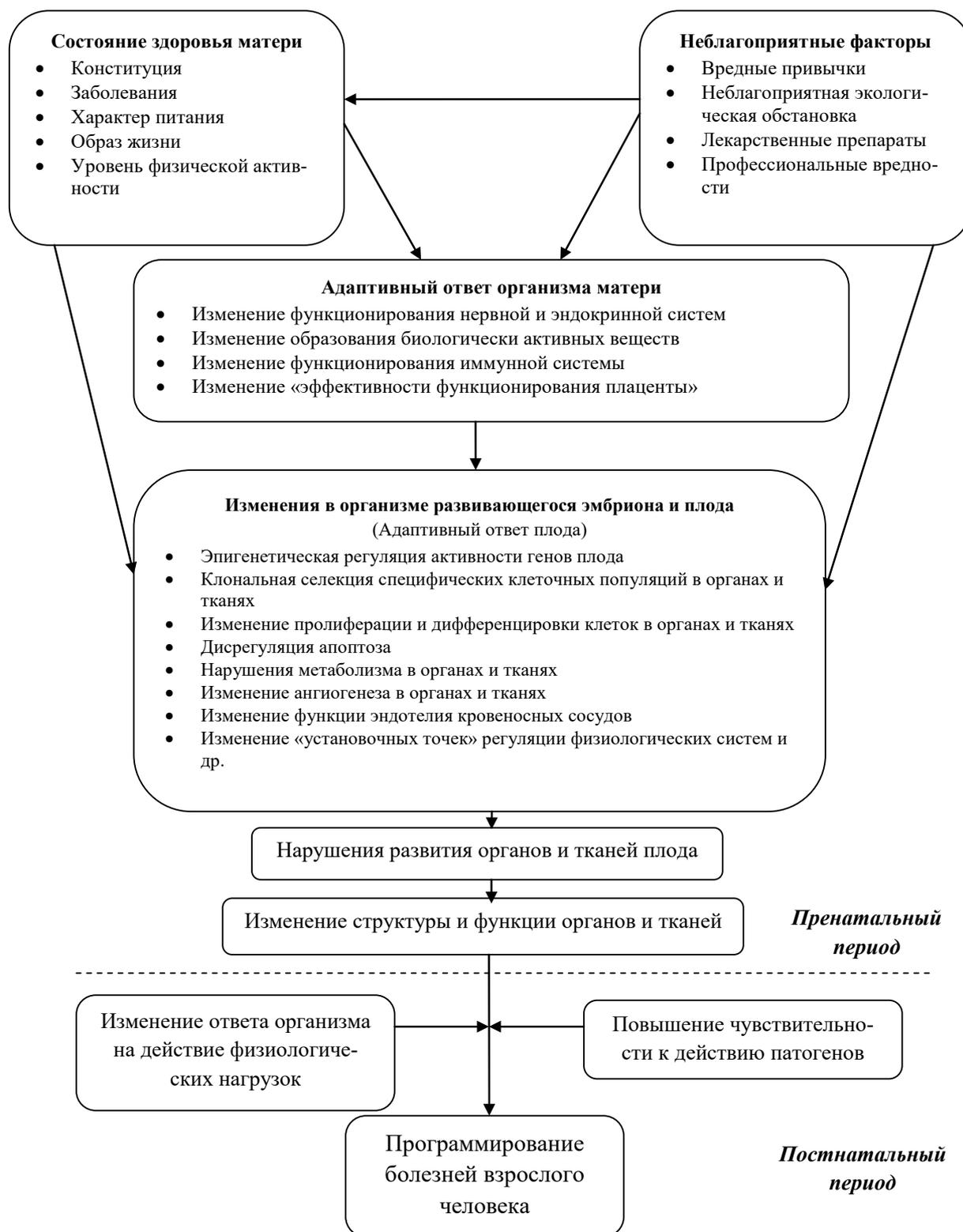


Рисунок 2 – Обобщенная модель механизмов пренатального программирования заболеваний [3].

жир. Биологическую ценность рыбьего жира определяют, главным образом, входящие в его состав длинноцепочечные омега-3 полиненасы-

щенные жирные кислоты (ω -3 ПНЖК) – эйкозапентаеновая (ЭПК) и докозагексаеновая (ДГК). Помимо ЭПК и ДГК, компонентами рыбьего

жира являются мононенасыщенные и насыщенные жирные кислоты, холестерол, витамины А и D (рис. 3) [44].

Рассмотрим основные свойства ЭПК и ДГК. Их принадлежность к группе ω -3 ПНЖК обусловлена положением первой двойной связи

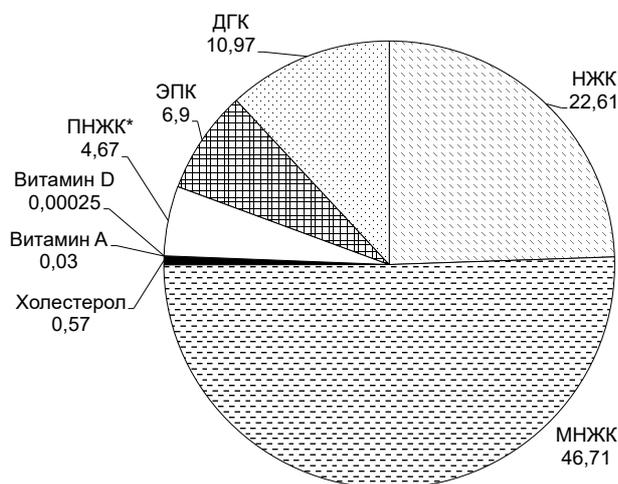


Рисунок 3 – Компоненты рыбьего жира (г/100г рыбьего жира): МНЖК – мононенасыщенные жирные кислоты; НЖК – насыщенные жирные кислоты; ЭПК – эйкозапентаеновая кислота; ДГК – докозагексаеновая кислота; ПНЖК* – полиненасыщенные жирные кислоты (за исключением ЭПК и ДГК). Источник данных: U.S. Department of Agriculture, Agricultural Research Service. USDA National Nutrient Database for Standard Reference [44].

у третьего атома углерода от метильного конца цепи, отсюда в названии этих жирных кислот появился символ «омега», так как атом углерода в конечной метильной группе обозначается « ω ». Следует отметить, что к группе ω -3 ПНЖК также относится и α -линоленовая кислота (АЛК). Основными источниками ЭПК и ДГК являются морепродукты, особенно ими богаты жирные сорта холодноводных рыб (табл. 1) [44]. Источниками АЛК являются растительные масла (например льняное, рапсовое масло, масло грецкого ореха). Примечательно, что в организме млекопитающих, включая человека, ЭПК и ДГК могут образовываться из АЛК, однако доля конверсии АЛК в ЭПК составляет около 8%, а преобразование АЛК в ДГК достигает 4% у особей мужского пола; у организмов женского пола интенсивность этой реакции выше и достигает 21% и 9% соответственно [45, 46]. Для синтеза ЭПК и ДГК необходимы ферменты десатуразы, катализирующие образование двойных связей в жирных кислотах, и элонгазы, способствующие удлинению цепи жирных кислот. Из АЛК образуется ЭПК под действием Δ 6- и Δ 5-десатураз и Δ 6-элонгазы. Затем ЭПК может превращаться в ДГК при участии Δ 5-элонгазы и Δ 4-десатуразы. В организме человека процессы преобразования АЛК в ЭПК и ДГК лимитированы и могут осуществляться только в некоторых органах и тканях, например в печени, в сосудах головного мозга, а также в астроглиальных клетках [47]. Действие неблагоприятных факторов, таких как курение, употре-

Таблица 1 – Содержание ЭПК и ДГК в одной порции (85 г) морепродуктов

Вид продукта	ЭПК, г	ДГК, г
Семга атлантическая, выращенная на рыбной ферме, приготовленная	0,59	1,24
Семга атлантическая, дикая, приготовленная	0,35	1,22
Сельдь атлантическая, приготовленная	0,77	0,94
Сардины, консервированные в томатном соусе	0,45	0,74
Скумбрия атлантическая, приготовленная	0,43	0,59
Лосось розовый, консервированный	0,28	0,63
Форель радужная, приготовленная	0,40	0,44
Устрицы восточные, дикие, приготовленные	0,30	0,23
Морской окунь, приготовленный	0,18	0,47
Креветки, приготовленные	0,12	0,12
Лобстер, приготовленный	0,10	0,07
Тунец, светлый, консервированный в собственном соку	0,02	0,17
Гребешки, приготовленные	0,06	0,09
Треска тихоокеанская, приготовленная	0,04	0,10
Тунец Yellow Fin, приготовленный	0,01	0,09

Примечание: источник данных: U.S. Department of Agriculture, Agricultural Research Service. USDA National Nutrient Database for Standard Reference [45].

бление алкоголя, стрессоров и ассоциированного с ними повышенного уровня адреналина, дефицит различных витаминов и минералов, действие онкогенных вирусов и ионизирующей радиации снижают активность элонгаз и десатураз, что уменьшает интенсивность конверсии АЛК в ЭПК и ДГК [48]. Кроме того, было доказано, что с возрастом активность $\Delta 6$ -десатуразы уменьшается, что также минимизирует возможность синтеза ЭПК из АЛК [49]. В дальнейшем ДГК и ЭПК выступают в качестве субстрата для образования липидных медиаторов, обладающих противовоспалительным действием, таких как резолвины D- и E-серий (из ДГК и ЭПК соответственно), нейпротектины, марезины [47]. Максимальная концентрация ЭПК и ДГК в плазме крови определяется через 5-9 часов после введения этих ω -3 ПНЖК в организм, а период полувыведения составляет приблизительно 37 часов для ЭПК и 48 часов для ДГК [50].

Биологическое действие ЭПК и ДГК весьма разнообразно и обусловлено способностью этих ω -3 ПНЖК встраиваться в клеточные мембраны, то есть служить своего рода «строительным материалом» структурных компонентов клетки; образовывать биологически активные метаболиты; эпигенетически влиять на фенотип клеток; оказывать противовоспалительное действие. Спектр изменений в организмах, чьи матери получали ЭПК и ДГК во время беременности, настолько разнообразен, что требует отдельного рассмотрения (см. «Раннее программирование заболеваний человека и использование нутрицевтиков с профилактической целью: фокус на рыбий жир. Обзор литературы. Часть 2»).

Заключение

Анализ результатов экспериментальных и клинических исследований позволяет сделать вывод о необходимости поиска способов минимизации последствий действия пренатальных стрессоров, так как изменения, возникающие в организмах, родившихся у матерей, беременность у которых протекала в неблагоприятных условиях, многообразны и обуславливают повышенную уязвимость таких индивидуумов к действию неблагоприятных факторов окружающей среды в постнатальном периоде. В следующей части обзора будут рассмотрены эффекты рыбьего жира, вводимого во время беременности, развивающейся в неблагоприятных условиях.

Литература

1. Об утверждении Государственной программы «Здоровье народа и демографическая безопасность Республики Беларусь» на 2016-2020 годы : постановление Совета Министров Респ. Беларусь, 14 марта 2016 г., № 200 // Нац. реестр правовых актов Респ. Беларусь. – 2016. – N 5/41840.
2. Barker, D. J. In utero programming of chronic diseases / D. J. Barker // Clin. Sci. (Lond.). – 1998 Aug. – Vol. 95, N 2. – P. 115–128.
3. Беляева, Л. Е. Гинекологическая эндокринология: патофизиологические основы / Л. Е. Беляева, В. И. Шебеко. – Москва : Мед. лит., 2009. – 256 с.
4. Alexander, B. T. Fetal programming and cardiovascular pathology / B. T. Alexander, J. H. Dasinger, S. Intapad // Compr. Physiol. – 2015 Apr. – Vol. 5, N 2. – P. 997–1025.
5. Fetal programming of neuropsychiatric disorders by maternal pregnancy depression: a systematic mini review / R. Robinson [et al.] // Pediatr. Res. – 2019 Jan. – Vol. 85, N 2. – P. 134–145.
6. The association between subjective maternal stress during pregnancy and offspring clinically diagnosed psychiatric disorders / R. Brannigan [et al.] // Acta. Psychiatr. Scand. – 2019 Apr. – Vol. 139, N 4. – P. 304–310.
7. Prenatal nutrition, epigenetics and schizophrenia risk: Can we test causal effects? / J. B. Kirkbride [et al.] // Epigenomics. – 2012 Jun. – Vol. 4, N 3. – P. 303–315.
8. Abolition of prenatal lipopolysaccharide-induced reproductive disorders in rat male offspring by fulvestrant / M. S. Izvolkaia [et al.] // Andrologia. – 2019 Apr. – Vol. 51, N 3. – P. e13204.
9. Disruptions in the reproductive system of female rats after prenatal lipopolysaccharide-induced immunological stress: role of sex steroids / V. M. Ignatiuk [et al.] // Stress. – 2019 Jan. – Vol. 22, N 1. – P. 133–141.
10. Prenatal Maternal Distress and Allergic Diseases in Offspring: Review of Evidence and Possible Pathways / D. I. Suh [et al.] // Allergy Asthma Immunol. Res. – 2017 May. – Vol. 9, N 3. – P. 200–211.
11. Association between prenatal particulate air pollution exposure and telomere length in cord blood: Effect modification by fetal sex / M. J. Rosa [et al.] // Environ Res. – 2019 May. – Vol. 172. – P. 495–501.
12. Maternal stress and early-onset colorectal cancer / Q. Zhang [et al.] // Med. Hypotheses. – 2018 Dec. – Vol. 121. – P. 152–159.
13. Sharma, A. Transgenerational epigenetics: Integrating soma to germline communication with gametic inheritance / A. Sharma // Mech. Ageing Dev. – 2017 Apr. – Vol. 163. – P. 15–22.
14. Klose, R. J. Genomic DNA methylation: the mark and its mediators / R. J. Klose, A. P. Bird // Trends Biochem. Sci. – 2006 Feb. – Vol. 31, N 2. – P. 89–97.
15. Global epigenomic reconfiguration during mammalian brain development / R. Lister [et al.] // Science. – 2013 Aug. – Vol. 341, N 6146. – P. 1237905.
16. Hydroxylation of 5-methylcytosine by TET1 promotes active DNA demethylation in the adult brain / J. U. Guo [et al.] // Cell. – 2011 Apr. – Vol. 145, N 3. – P. 423–434.
17. Maor, G. L. The alternative role of DNA methylation in splicing regulation / G. L. Maor, A. Yearim, G. Ast // Trends Genet. – 2015 May. – Vol. 31, N 5. – P. 274–280.
18. The role of DNA methylation in directing the functional organization of the cancer epigenome / F. D. Lay [et al.] // Genome Res. – 2015 Apr. – Vol. 25, N 4. – P. 467–477.
19. Kouzarides, T. Chromatin modifications and their function / T.

- Kouzarides // *Cell*. – 2007 Feb. – Vol. 128, N 4. – P. 693–705.
20. Oliver, S. S. Dynamic Interplay between histone H3 modifications and protein interpreters: emerging evidence for a «histone language» / S. S. Oliver, J. M. Denu // *Chembiochem*. – 2011 Jan. – Vol. 12, N 2. – P. 299–307.
 21. Price, B. D. Chromatin Remodeling at DNA Double Strand Breaks / B. D. Price, A. D. D'Andrea // *Cell*. – 2013 Mar. – Vol. 152, N 6. – P. 1344–1354.
 22. Effects of histone acetylation, ubiquitination and variants on nucleosome stability / W. Li [et al.] // *Biochem. J.* – 1993 Dec. – Vol. 296, pt. 3. – P. 737–744.
 23. Dehennaut, V. O-GlcNAcylation, an Epigenetic Mark. Focus on the Histone Code, TET Family Proteins, and Polycomb Group Proteins / V. Dehennaut, D. Leprince, T. Lefebvre // *Front. Endocrinol. (Lausanne)*. – 2014 Sep. – Vol. 5. – P. 155.
 24. Rousseaux, S. Histone Acylation beyond Acetylation: Terra Incognita in Chromatin Biology / S. Rousseaux, S. Khochbin // *Cell. J.* – 2015 Spring. – Vol. 17, N 1. – P. 1–6.
 25. Feng, S. Epigenetic reprogramming in plant and animal development / S. Feng, S. E. Jacobsen, W. Reik // *Science*. – 2010 Oct. – Vol. 330, N 6004. – P. 622–627.
 26. Reik, W. Stability and flexibility of epigenetic gene regulation in mammalian development / W. Reik // *Nature*. – 2007 May. – Vol. 447, N 7143. – P. 425–432.
 27. Maternal exposure to particulate air pollution and term birth weight: a multi-country evaluation of effect and heterogeneity / P. Dadvand [et al.] // *Environ. Health. Perspect.* – 2013 Mar. – Vol. 121, N 3. – P. 267–373.
 28. Coronary heart disease after prenatal exposure to the Dutch famine, 1944–45 / T. J. Roseboom [et al.] // *Heart*. – 2000 Dec. – Vol. 84, N 6. – P. 595–598.
 29. King, B. R. Placental corticotrophin-releasing hormone, local effects and fetomaternal endocrinology / B. R. King, R. C. Nicholson, R. Smith // *Stress*. – 2001 Dec. – Vol. 4, N 4. – P. 219–233.
 30. Glucocorticoid stimulates expression of corticotropin-releasing hormone gene in human placenta / B. G. Robinson [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. – 1988 Jul. – Vol. 85, N 14. – P. 5244–5248.
 31. Prenatal maternal cortisol concentrations predict neurodevelopment in middle childhood / E. P. Davis [et al.] // *Psychoneuroendocrinology*. – 2017 Jan. – Vol. 75. – P. 56–63.
 32. Prenatal corticosterone exposure programs sex-specific adrenal adaptations in mouse offspring / J. S. Cuffe [et al.] // *J. Endocrinol.* – 2017 Jan. – Vol. 232, N 1. – P. 37–48.
 33. Reduced placental 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 2 mRNA levels in human pregnancies complicated by intrauterine growth restriction: an analysis of possible mechanisms / C. L. McTernan [et al.] // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* – 2001 Oct. – Vol. 86, N 10. – P. 4979–4983.
 34. Inhibition of placental 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 2 by catecholamines via alpha-adrenergic signaling / S. Sarkar [et al.] // *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* – 2001 Dec. – Vol. 281, N 6. – P. R1966–R1974.
 35. Oxygen regulation of placental 11 beta-hydroxysteroid dehydrogenase 2: physiological and pathological implications / N. Alfaidy [et al.] // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* – 2002 Oct. – Vol. 87, N 10. – P. 4797–4805.
 36. Proinflammatory cytokines inhibit human placental 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 2 activity through Ca²⁺ and cAMP pathways / I. Kossintseva [et al.] // *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* – 2006 Feb. – Vol. 290, N 2. – P. E282–E288.
 37. Maternal prenatal anxiety and downregulation of placental 11beta-HSD2 / K. J. O'Donnell [et al.] // *Psychoneuroendocrinology*. – 2012 Jun. – Vol. 37, N 6. – P. 818–826.
 38. Xiong, F. Role of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in developmental programming of health and disease / F. Xiong, L. Zhang // *Front. Neuroendocrinol.* – 2013 Jan. – Vol. 34, N 1. – P. 27–46.
 39. Chrousos, G. P. Interactions between the hypothalamic-pituitary-adrenal axis and the female reproductive system: clinical implications / G. P. Chrousos, D. J. Torpy, P. W. Gold // *Ann. Intern. Med.* – 1998 Aug. – Vol. 129, N 3. – P. 229–240.
 40. Intrauterine growth restriction with absent end-diastolic flow velocity in the umbilical artery is associated with maldevelopment of the placental terminal villous tree / C. Krebs [et al.] // *Am. J. Obstet. Gynecol.* – 1996 Dec. – Vol. 175, N 6. – P. 1534–1542.
 41. Myatt, L. Placental adaptive responses and fetal programming / L. Myatt // *J. Physiol.* – 2006 Apr. – Vol. 572, pt. 1. – P. 25–30.
 42. Regulation of human placental development by oxygen tension / O. Genbacev [et al.] // *Science*. – 1997 Sep. – Vol. 277, N 5332. – P. 1669–1672.
 43. Brower, V. Nutraceuticals: poised for healthy slice of the healthcare market? / V. Brower // *Nat. Biotechnol.* – 1998 Aug. – Vol. 16, N 8. – P. 728–731.
 44. USDA National Nutrient Database for Standard Reference [Electronic resource] / United States Department of Agriculture, Agricultural Research Service. – 2019. – Mode of access: <https://ndb.nal.usda.gov/ndb/foods/show/04589>. – Date of access: 13.08.2019.
 45. Burdge, G. C. Dietary alpha-linolenic acid and health-related outcomes: a metabolic perspective / G. C. Burdge, P. C. Calder // *Nutr. Res. Rev.* – 2006 Jun. – Vol. 19, N 1. – P. 26–52.
 46. Abedi, E. Long-chain polyunsaturated fatty acid sources and evaluation of their nutritional and functional properties / E. Abedi, M. A. Sahari // *Food Sci. Nutr.* – 2014 Sep. – Vol. 2, N 5. – P. 443–463.
 47. Pathways of polyunsaturated fatty acid utilization: Implications for brain function in neuropsychiatric health and disease / J. J. Liu [et al.] // *Brain. Res.* – 2015 Feb. – Vol. 1597. – P. 220–246.
 48. Dietary intake of trans fatty acids and systemic inflammation in women / D. Mozaffarian [et al.] // *Am. J. Clin. Nutr.* – 2004 Apr. – Vol. 79, N 4. – P. 606–612.
 49. Effects of cigarette smoke on cell viability, linoleic acid metabolism and cholesterol synthesis, in THP-1 cells / S. Ghezzi [et al.] // *Lipids*. – 2007 Jul. – Vol. 42, N 7. – P. 629–636.
 50. Cicero, A. F. G. Krill oil: evidence of a new source of polyunsaturated fatty acids with high bioavailability / A. F. G. Cicero, A. Colletti // *Clin. Lipidol.* – 2015. – Vol. 10. – P. 1–4.

Поступила 27.02.2019 г.

Принята в печать 25.07.2019 г.

References

- On approval of the 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. Nats Reestr Pravovykh Aktov Resp Belarus'. 2016;(5/41840). (In Russ.)
- Barker DJ. In utero programming of chronic diseases. *Clin Sci (Lond)*. 1998 Aug;95(2):115-28.
- Belyaeva LE, Shebeko VI. Gynecological endocrinology: pathophysiological basis. Moscow, RF: Med lit, 2009. 256 p. (In Russ.)
- Alexander BT, Dasinger JH, Intapad S. Fetal programming and cardiovascular pathology. *Compr Physiol*. 2015 Apr;5(2):997-1025. doi: 10.1002/cphy.c140036
- Robinson R, Lahti-Pulkkinen M, Heinonen K, Reynolds RM, Räikkönen K. Fetal programming of neuropsychiatric disorders by maternal pregnancy depression: a systematic mini review. *Pediatr Res*. 2019 Jan;85(2):134-145. doi: 10.1038/s41390-018-0173-y
- Brannigan R, Cannon M, Tanskanen A, Huttunen MO, Leacy FP, Clarke MC. The association between subjective maternal stress during pregnancy and offspring clinically diagnosed psychiatric disorders. *Acta Psychiatr Scand*. 2019 Apr;139(4):304-310. doi: 10.1111/acps.12996
- Kirkbride JB, Susser E, Kundakovic M, Kresovich JK, Davey Smith G, Relton CL. Prenatal nutrition, epigenetics and schizophrenia risk: Can we test causal effects? *Epigenomics*. 2012 Jun;4(3):303-15. doi: 10.2217/epi.12.20
- Izvol'skaia MS, Sharova VS, Ignatiuk VM, Voronova SN, Zakharova LA. Abolition of prenatal lipopolysaccharide-induced reproductive disorders in rat male offspring by fulvestrant. *Andrologia*. 2019 Apr;51(3):e13204. doi: 10.1111/and.13204
- Ignatiuk VM, Izvol'skaya MS, Sharova VS, Voronova SN, Zakharova LA. Disruptions in the reproductive system of female rats after prenatal lipopolysaccharide-induced immunological stress: role of sex steroids. *Stress*. 2019 Jan;22(1):133-141. doi: 10.1080/10253890.2018.1508440
- Suh DI, Chang HY, Lee E, Yang SI, Hong SJ. Prenatal Maternal Distress and Allergic Diseases in Offspring: Review of Evidence and Possible Pathways. *Allergy Asthma Immunol Res*. 2017 May;9(3):200-211. doi: 10.4168/air.2017.9.3.200
- Rosa MJ, Hsu HL, Just AC, Brennan KJ, Bloomquist T, Kloog I, et al. Association between prenatal particulate air pollution exposure and telomere length in cord blood: Effect modification by fetal sex. *Environ Res*. 2019 May;172:495-501. doi: 10.1016/j.envres.2019.03.003
- Zhang Q, Berger FG, Love B, Banister CE, Murphy EA, Hofseth LJ. Maternal stress and early-onset colorectal cancer. *Med Hypotheses*. 2018 Dec;121:152-159. doi: 10.1016/j.mehy.2018.09.035
- Sharma A. Transgenerational epigenetics: Integrating soma to germline communication with gametic inheritance. *Mech Ageing Dev*. 2017 Apr;163:15-22. doi: 10.1016/j.mad.2016.12.015
- Klose RJ, Bird AP. Genomic DNA methylation: the mark and its mediators. *Trends Biochem Sci*. 2006 Feb;31(2):89-97. doi: 10.1016/j.tibs.2005.12.008
- Lister R, Mukamel EA, Nery JR, Urich M, Puddifoot CA, Johnson ND, et al. Global epigenomic reconfiguration during mammalian brain development. *Science*. 2013 Aug;341(6146):1237905. doi: 10.1126/science.1237905
- Guo JU, Su Y, Zhong C, Ming GL, Song H. Hydroxylation of 5-methylcytosine by TET1 promotes active DNA demethylation in the adult brain. *Cell*. 2011 Apr;145(3):423-34. doi: 10.1016/j.cell.2011.03.022
- Maor GL, Yearim A, Ast G. The alternative role of DNA methylation in splicing regulation. *Trends Genet*. 2015 May;31(5):274-80. doi: 10.1016/j.tig.2015.03.002
- Lay FD, Liu Y, Kelly TK, Witt H, Farnham PJ, Jones PA, et al. The role of DNA methylation in directing the functional organization of the cancer epigenome. *Genome Res*. 2015 Apr;25(4):467-77. doi: 10.1101/gr.183368.114
- Kouzarides T. Chromatin modifications and their function. *Cell*. 2007 Feb;128(4):693-705. doi: 10.1016/j.cell.2007.02.005
- Oliver SS, Denu JM. Dynamic Interplay between histone H3 modifications and protein interpreters: emerging evidence for a «histone language». *Chembiochem*. 2011 Jan;12(2):299-307. doi: 10.1002/cbic.201000474
- Price BD, D'Andrea AD. Chromatin Remodeling at DNA Double Strand Breaks. *Cell*. 2013 Mar;152(6):1344-54. doi: 10.1016/j.cell.2013.02.011
- Li W, Nagaraja S, Delcuve GP, Hendzel MJ, Davie JR. Effects of histone acetylation, ubiquitination and variants on nucleosome stability. *Biochem J*. 1993 Dec;296 (Pt 3):737-44. doi: 10.1042/bj2960737
- Dehennaut V, Leprince D, Lefebvre T. O-GlcNAcylation, an Epigenetic Mark. Focus on the Histone Code, TET Family Proteins, and Polycomb Group Proteins. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2014 Sep;5:155. doi: 10.3389/fendo.2014.00155
- Rousseaux S, Khochbin S. Histone Acylation beyond Acetylation: Terra Incognita in Chromatin Biology. *Cell J*. 2015 Spring;17(1):1-6
- Feng S, Jacobsen SE, Reik W. Epigenetic reprogramming in plant and animal development. *Science*. 2010 Oct;330(6004):622-7. doi: 10.1126/science.1190614
- Reik W. Stability and flexibility of epigenetic gene regulation in mammalian development. *Nature*. 2007 May;447(7143):425-32. doi: 10.1038/nature05918
- Dadvand P, Parker J, Bell ML, Bonzini M, Brauer M, Darrow LA, et al. Maternal exposure to particulate air pollution and term birth weight: a multi-country evaluation of effect and heterogeneity. *Environ Health Perspect*. 2013 Mar;121(3):267-373. doi: 10.1289/ehp.1205575
- Roseboom TJ, van der Meulen JH, Osmond C, Barker DJ, Ravelli AC, Schroeder-Tanka JM, et al. Coronary heart disease after prenatal exposure to the Dutch famine, 1944-45. *Heart*. 2000 Dec;84(6):595-8. doi: 10.1136/heart.84.6.595
- King BR, Nicholson RC, Smith R. Placental corticotrophin-releasing hormone, local effects and fetomaternal endocrinology. *Stress*. 2001 Dec;4(4):219-33.
- Robinson BG, Emanuel RL, Frim DM, Majzoub JA. Glucocorticoid stimulates expression of corticotropin-releasing hormone gene in human placenta. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1988 Jul;85(14):5244-8. doi: 10.1073/pnas.85.14.5244
- Davis EP, Head K, Buss C, Sandman CA. Prenatal maternal cortisol concentrations predict neurodevelopment in middle childhood. *Psychoneuroendocrinology*. 2017 Jan;75:56-63. doi: 10.1016/j.psyneuen.2016.10.005
- Cuffe JS, Turton EL, Akison LK, Bielefeldt-Ohmann H, Moritz KM. Prenatal corticosterone exposure programs sex-specific adrenal adaptations in mouse offspring. *J Endocrinol*. 2017 Jan;232(1):37-48. doi: 10.1530/JOE-16-0417

33. McTernan CL, Draper N, Nicholson H, Chalder SM, Driver P, Hewison M, et al. Reduced placental 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 2 mRNA levels in human pregnancies complicated by intrauterine growth restriction: an analysis of possible mechanisms. *J Clin Endocrinol Metab.* 2001 Oct;86(10):4979-83.
34. Sarkar S, Tsai SW, Nguyen TT, Plevyak M, Padbury JF, Rubin LP. Inhibition of placental 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 2 by catecholamines via alpha-adrenergic signaling. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 2001 Dec;281(6):R1966-74. doi: 10.1152/ajpregu.2001.281.6.R1966
35. Alfaidy N, Gupta S, DeMarco C, Caniggia I, Challis JR. Oxygen regulation of placental 11 beta-hydroxysteroid dehydrogenase 2: physiological and pathological implications. *J Clin Endocrinol Metab.* 2002 Oct;87(10):4797-805. doi: 10.1210/jc.2002-020310
36. Kossintseva I, Wong S, Johnstone E, Guilbert L, Olson DM, Mitchell BF. Proinflammatory cytokines inhibit human placental 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 2 activity through Ca²⁺ and cAMP pathways. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2006 Feb;290(2):E282-8
37. O'Donnell KJ, Bugge Jensen A, Freeman L, Khalife N, O'Connor TG, Glover V. Maternal prenatal anxiety and downregulation of placental 11beta-HSD2. *Psychoneuroendocrinology.* 2012 Jun;37(6):818-26. doi: 10.1016/j.psyneuen.2011.09.014
38. Xiong F, Zhang L. Role of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in developmental programming of health and disease. *Front Neuroendocrinol.* 2013 Jan;34(1):27-46. doi: 10.1016/j.yfine.2012.11.002
39. Chrousos GP, Torpy DJ, Gold PW. Interactions between the hypothalamic-pituitary-adrenal axis and the female reproductive system: clinical implications. *Ann Intern Med.* 1998 Aug;129(3):229-40. doi: 10.7326/0003-4819-129-3-199808010-00012
40. Krebs C, Macara LM, Leiser R, Bowman AW, Greer IA, Kingdom JC. Intrauterine growth restriction with absent end-diastolic flow velocity in the umbilical artery is associated with maldevelopment of the placental terminal villous tree. *Am J Obstet Gynecol.* 1996 Dec;175(6):1534-42.
41. Myatt L. Placental adaptive responses and fetal programming. *J Physiol.* 2006 Apr;572(Pt 1):25-30. doi: 10.1113/jphysiol.2006.104968
42. Genbacev O, Zhou Y, Ludlow JW, Fisher SJ. Regulation of human placental development by oxygen tension. *Science.* 1997 Sep;277(5332):1669-72.
43. Brower V. Nutraceuticals: poised for healthy slice of the healthcare market? *Nat Biotechnol.* 1998 Aug;16(8):728-31. doi: 10.1038/nbt0898-728
44. United States Department of Agriculture, Agricultural Research Service. USDA National Nutrient Database for Standard Reference. 2019. Available from: <https://ndb.nal.usda.gov/ndb/foods/show/04589> [Accessed 13th Aug 2019].
45. Burdge GC, Calder PC. Dietary alpha-linolenic acid and health-related outcomes: a metabolic perspective. *Nutr Res Rev.* 2006 Jun;19(1):26-52. doi: 10.1079/NRR2005113
46. Abedi E, Sahari MA. Long-chain polyunsaturated fatty acid sources and evaluation of their nutritional and functional properties. *Food Sci Nutr.* 2014 Sep;2(5):443-63. doi: 10.1002/fsn3.121
47. Liu JJ, Green P, John Mann J, Rapoport SI, Sublette ME. Pathways of polyunsaturated fatty acid utilization: Implications for brain function in neuropsychiatric health and disease. *Brain Res.* 2015 Feb;1597:220-46. doi: 10.1016/j.brainres.2014.11.059
48. Mozaffarian D, Pischon T, Hankinson SE, Rifai N, Joshipura K, Willett WC, et al. Dietary intake of trans fatty acids and systemic inflammation in women. *Am J Clin Nutr.* 2004 Apr;79(4):606-12. doi: 10.1093/ajcn/79.4.606
49. Ghezzi S, Risé P, Ceruti S, Galli C. Effects of cigarette smoke on cell viability, linoleic acid metabolism and cholesterol synthesis, in THP-1 cells. *Lipids.* 2007 Jul;42(7):629-36.
50. Cicero AFG, Colletti A. Krill oil: evidence of a new source of polyunsaturated fatty acids with high bioavailability. *Clin Lipidol.* 2015;10:1-4.

Submitted 27.02.2019

Accepted 25.07.2019

Сведения об авторах:

Беляева Л.Е. – к.м.н., доцент, заведующая кафедрой патологической физиологии, Витебский государственный орден Дружбы народов медицинский университет;

Павлюкевич А.Н. – м.м.н., ассистент кафедры патологической физиологии, Витебский государственный орден Дружбы народов медицинский университет.

Information about authors:

Belyaeva L.E. – Candidate of Medical Sciences, associate professor, head of the Chair of Pathologic Physiology, Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University;

Pauliukevich A.N. – Master of Medical Sciences, lecturer of the Chair of Pathologic Physiology, Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University.

Адрес для корреспонденции: Республика Беларусь, 210009, г. Витебск, пр. Фрунзе, 27, Витебский государственный орден Дружбы народов медицинский университет, кафедра патологической физиологии. E-mail: lyudm.belyaeva2013@yandex.by – Беляева Людмила Евгеньевна.

Correspondence address: Republic of Belarus, 210009, Vitebsk, 27 Frunze ave., Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University, Chair of Pathologic Physiology. E-mail: lyudm.belyaeva2013@yandex.by – Lyudmila E. Belyaeva.

ВЛИЯНИЕ СИСТЕМЫ ИММУНИТЕТА НА ФОРМИРОВАНИЕ АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИИ. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

ВЫХРИСТЕНКО Л.Р., СЧАСТЛИВЕНКО А.И., ПРОКОШИНА Н.Р.

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

Вестник ВГМУ. – 2019. – Том 18, №4. – С. 17-27.

THE IMMUNE SYSTEM IMPACT ON THE DEVELOPMENT OF ARTERIAL HYPERTENSION. LITERATURE REVIEW

VYKHRYSTENKA L.R., SCHASTLIVENKO A.I., PRAKOSHYNA N.R.

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

Vestnik VGMU. 2019;18(4):17-27.

Резюме.

В статье представлены современные исследования, посвященные изучению роли системы иммунитета в патогенезе артериальной гипертензии (АГ). Многие научные исследования улучшили понимание молекулярных механизмов формирования АГ и позволили оценить вклад факторов и клеток врожденного иммунитета, таких как система комплемента, антигенпрезентирующие клетки и рецепторы распознавания образов; и адаптивного иммунитета, представленного В- и Т-лимфоцитами, включая субпопуляции Т-хелперов (Th) 1 типа, Th2, Th17, Т-регуляторные клетки, Т-цитотоксические клетки; а также цитокинов, регулирующих иммунный ответ посредством межклеточного и межсистемного взаимодействия.

Результаты обзора литературы убедительно свидетельствуют, что модуляция иммунного ответа может снизить риск формирования АГ и повреждения органов-мишеней. Несколько клинических исследований в этой области, проведенных в последние годы, позволяют прогнозировать внедрение результатов и достижений из общей иммунологии в клиническую медицину.

Ключевые слова: артериальная гипертензия, ангиотензин II, врожденный иммунитет, приобретенный иммунитет, цитокины.

Abstract.

The article presents modern studies on the role of the immune system in the pathogenesis of arterial hypertension (AH). Many scientific researches have improved the understanding of the molecular mechanisms of hypertension development and made it possible to evaluate the contribution of factors and cells of innate immunity, such as the complement system, antigen-presenting cells, and pattern recognition receptors; and those of adaptive immunity represented by B- and T-lymphocytes, including subpopulations of T-helper (Th) type 1, Th2, Th17, T-regulatory cells, T-cytotoxic cells; as well as cytokines that regulate the immune response through intercellular and intersystemic interaction.

The results of this literature review convincingly indicate that modulation of the immune response may reduce the risk of arterial hypertension development and target-organ damage. Several clinical studies in this field, conducted recently enable the prognostication of the introduction of results and achievements from general immunology into clinical medicine.

Key words: arterial hypertension, angiotensin II, innate immunity, adaptive immunity, cytokines.

Артериальная гипертензия (АГ) является социально-значимым и широко распространенным заболеванием в мире. Стандартизированная по возрасту распространенность АГ в мире

составляет среди мужчин 24,1% и 20,1% среди женщин, а в странах Центральной и Восточной Европы, как и в странах Африки и Азии, сохраняется высокая распространенность АГ, которая

наблюдается более чем у трети населения [1]. АГ рассматривается как полиэтиологическое заболевание, при котором ни одна из существующих патогенетических теорий полностью не объясняет все причины повышения артериального давления (АД), и более чем в 90% случаев классифицируется как эссенциальная АГ [2]. Одним из перспективных и пока недостаточно изученным направлением является определение роли системы иммунитета (СИ) в патогенезе АГ [3].

Целью статьи является обзор литературных данных, посвященных иммунным механизмам формирования АГ.

Участие врожденного иммунитета в развитии АГ

Врожденный иммунитет (естественный) является первой линией защиты СИ от вторжения патогенных микроорганизмов, обеспечивает первичную воспалительную реакцию организма на антиген, в отличие от вторичной специфической реакции на определенный антиген опосредованной приобретенным (адаптивным, специфическим) иммунитетом. Основными клеточными компонентами врожденного иммунитета являются гранулоциты, макрофаги, тучные клетки, естественные киллеры, $T\gamma\delta$ - и $B1$ ($CD5^+$) – лимфоциты, а наиболее важными гуморальными факторами защиты – система комплемента, цитокины, белки острой фазы и дефензины.

Система комплемента. Система комплемента является важным компонентом врожденного звена СИ. Она включает около 20 белков, условно разделенных на группы в связи с их функциями: белки классического пути активации, белки альтернативного пути активации, белки мембраноатакующего комплекса, ряд регуляторных белков, которые циркулируют в крови и тканевой жидкости. Активация комплемента приводит к расщеплению белка $C3$ и образованию анафилатоксинов $C3a$ и $C5a$, которые повышают проницаемость сосудистой стенки и являются хемотоксинами, способными активировать различные типы эффекторных клеток.

В экспериментальной модели гипертензии, индуцированной введением ангиотензина II (АТ II), было показано значительное повышение уровней $C3a$ и $C5a$ в сыворотке крови. Лечение с помощью антагониста рецептора $C5a$ предотвращало ремоделирование сердца у мышей, уменьшая гипертрофию кардиомиоцитов и периваску-

лярный фиброз [4].

В другом исследовании было установлено, что $C3$ -компонент индуцирует пролиферацию гладкомышечных клеток в стенке сосудов, а активность комплемента имеет прямую корреляционную связь с уровнями АТ II и систолического АД [5].

Естественные киллеры и врожденные лимфоидные клетки. Семейство врожденных лимфоидных клеток (innate lymphoid cells, ILC) подразделяется на три подгруппы: ILC1, включающие в себя клетки естественных киллеров (natural killer, NK), ILC2 и ILC3, которые отличаются по продукции цитокинов, использованию транскрипционных факторов и функциональным характеристикам [6]. В отсутствие антиген-специфических рецепторов, ILC распознают молекулярные паттерны стрессовых и поврежденных клеток, а также патоген-ассоциированные молекулы образа микробов с помощью набора активирующих и ингибирующих рецепторов.

NK являются классическими эффекторными лимфоцитами врожденного иммунитета, оказывающими цитотоксическое действие на клетки-мишени. В исследовании S. Kossmann и соавт. [7] сообщается о миграции NK в стенку аорты при АТ II - индуцированной гипертензии, где они продуцируют интерферон-гамма ($INF-\gamma$). Снижение количества NK уменьшало АТ II - индуцированную эндотелиальную дисфункцию. Роль других врожденных лимфоидных клеток в формировании АГ до настоящего времени остается неопределенной.

К врожденному звену СИ относятся субпопуляции Т-клеток, распознающие антиген без участия молекул HLA (human leukocyte antigens) I класса, включающие $\gamma\delta$ -Т-клетки (экспрессируют рецептор Т-клеток $\gamma\delta$ -цепей), NK-Т-клетки, несущие на поверхности маркеры NK и Т-лимфоцитов, и инвариантные Т-клетки, связанные со слизистой оболочкой. Установлено, что $\gamma\delta$ -Т-клетки являются основным источником интерлейкина 17 (interleukin 17, IL-17) при гипертензии. Уровень изоформы IL-17A в Т-клетках повышается при гипертензии, индуцированной введением мышам АТ II, а также у пациентов с АГ [8].

Макрофаги и моноциты. Клетки миелоидного происхождения – моноциты, макрофаги, гранулоциты и дендритные клетки являются основными эффекторными клетками врожденного звена СИ. Активные формы кислорода, проду-

цируемые макрофагами, изменяют сосудистую реактивность и вместе с матриксными металлопротеиназами способствуют ремоделированию сосудов. Поглощение макрофагами окисленных липопротеидов низкой плотности приводит к образованию пенистых клеток и представляет собой раннюю стадию атерогенеза. Кроме того, макрофаги являются потенциальными источниками провоспалительных цитокинов – фактора некроза опухоли альфа (tumor necrosis factor, TNF- α) и IL-6, значение которых в формировании и поддержании АГ в настоящее время доказано [9].

P. Wenzel и соавт. [10] показали, что в моделях индуцированной гипертензии (солезависимой и АТ II - зависимой) элиминация моноцитов / макрофагов или ингибирование их активации снижает уровень повышенного АД. Состояние моноцитов / макрофагов отражает минимальные нарушения гомеостаза в организме человека, характерные для ранних стадий формирования атеросклероза, АГ и сахарного диабета II типа.

Значение макрофагов, дендритных клеток, моноцитов для контроля уровня АД было продемонстрировано в экспериментальных работах по пересадке костного мозга [11]. Так, пересадка костного мозга, содержащего эти клетки, от крыс со спонтанной гипертензией линии SHR (Spontaneously Hypertensive Rats) нормотензивным крысам Вистар (Wistar) увеличивало уровень АД у последних.

В работе А.Е. Norlander и соавт. [3] получены данные, подтверждающие, что активация моноцитов / макрофагов, $\gamma\delta$ -Т-клеток, NK и ILC усиливает гипертензивное повреждение почек.

Антигенпрезентирующие клетки. Активация врожденного иммунитета через антигенпрезентирующие клетки (antigen – presenting cell, APC) является обязательным и иницирующим этапом специфического иммунного ответа. К APC относят макрофаги, дендритные клетки, клетки Лангерганса, интердигитирующие клетки, В-лимфоциты. APC расщепляют антигены до пептидов и представляют их в комплексах гистосовместимости, которые распознаются Т-клеточными рецепторами. Для полной активации Т-клеток необходима костимуляция рецептора CD28 на Т-клетках с лигандами B7 (CD80 и CD86) на APC. В отсутствие костимуляции часто происходит апоптоз Т-клеток. Регуляция активации Т-лимфоцитов осуществляется цитотоксическим антигеном 4 лимфоцитов (cytotoxic T lymphocyte antigen 4, CTLA4), экспрессируемым

на Т-клетках, который связывается с лигандами B7 на APC и предотвращает их взаимодействие с CD28.

В эксперименте установлено значение костимуляции Т-клеток для гипертензии. Введение мышам абатацепта – биологического лекарственного средства, представляющего собой химерные молекулы, состоящие из CTLA4, связанного с иммуноглобулином, предотвращало развитие гипертензии [12].

Показано, что истощение APC (макрофагов, нейтрофилов) или ингибирование их накопления замедляло прогрессирование экспериментальной гипертензии [13].

Недавние эксперименты определили связь между окислительным стрессом и активацией СИ при гипертензии. Одним из основных ферментов, продуцирующих активные формы кислорода, является никотинамид аденин динуклеотид фосфоатаксидаза (nicotinamide adenine dinucleotide phosphate, NADPH), используемая фагоцитами для синтеза супероксида. Показано, что активация NADPH-оксидазы в APC увеличивает продукцию активных форм кислорода в ответ на различные гипертензивные стимулы и ингибирование этого фермента уменьшает сосудистое воспаление при гипертензии [14]. Установлена роль дендритных клеток в стимуляции Т-клеток путем продукции высокореактивных изокетальных белков – продуктов окисления липидов. Эти изокетал-модифицированные белки способствуют секреции дендритными клетками провоспалительных цитокинов – IL-1 β , IL-6 и IL-23, вызывают пролиферацию и активацию Т-клеток, способствуя, тем самым, прогрессированию АГ [15].

В исследовании D. Macconi и соавт. [16] демонстрируется, что белки теплового шока и продукты расщепления альбумина в дендритных клетках проксимальных канальцев почек запускают адаптивный иммунный ответ и усиливают гипертензию.

Толл-подобные рецепторы. Толл-подобные рецепторы (toll-like receptors, TLR) экспрессируются на различных клетках СИ и клетках многих органов и тканей, включая эндотелий, эпителий слизистых оболочек, кардиомиоциты, эпителиальные клетки клубочков и канальцев почек, кератиноциты, астроциты, нейроны и клетки микроглии [17].

TLR распознают и взаимодействуют с патоген-ассоциированными молекулярными

паттернами и дистресс-ассоциированными молекулярными паттернами. Патоген-ассоциированные молекулярные паттерны – это компоненты клеточной стенки бактерий и грибов (липополисахариды, липопротеины, пептидогликан, β -глобулин), или микробные нуклеиновые кислоты и белки (флагеллин, профилин), а дистресс-ассоциированные молекулярные паттерны – эндогенные молекулы, которые начинают синтезироваться при инфекции или ином клеточном дистрессе (нарушение ионного баланса клетки, некротическая гибель собственных клеток) [18].

Основной функцией TLR является запуск сигнальных путей цитокиновых генов, приводящий к повышению синтеза провоспалительных цитокинов (IL-1, IL-6, TNF- α , TNF- β и др.), хемокинов, экспрессии индуцибельной NO-синтазы и продукции активных форм кислорода. Лиганды TLR активируют ядерный фактор каппа В (nuclear factor κ B, NF- κ B) – фактор транскрипции, контролирующий экспрессию генов иммунного ответа, апоптоза и клеточного цикла. В работе В. Rodriguez-Iturbe и соавт. [18] показано, что ингибирование NF- κ B снижает уровень АД и уменьшает повреждение почек.

Одним из аспектов участия TLR в развитии АГ является тождественность агонистов, которые активируют данные рецепторы. Множественные продукты деградации клеток, включая внутриклеточные белки, в частности белки теплового шока, фибронектин, фибриноген и другие, называемые аларминами (от англ. alarm – опасность, тревога), а также пурины и нуклеиновые кислоты, являются предполагаемыми агонистами для TLR. Считается, что при АГ первоначальное повреждение тканей повышенным АД приводит к образованию аларминов, которые передают информацию, напоминающую сигналы, идущие от эндогенных источников повреждения. Вступающие в апоптоз клетки высвобождают эндогенные молекулы, которые поступают во внеклеточное пространство и инициируют неинфекционный воспалительный ответ [19].

Предположительно, пролиферация гладкомышечных клеток в стенке сосудов под действием секреции TNF- α происходит через механизм, связанный с TLR4. Данный тип рецептора был повышен у крыс со спонтанной гипертензией, при этом лечение антителом против TLR4 снижало АД [20]. TLR4 экспрессируется в клетках гладких мышцах сосудов аорты у мышей и его инактивация олигонуклеотидом предотвращает

экспериментальную гипертензию [21]. Сообщается о повышении экспрессии TLR4 в периферических моноцитах у пациентов с АГ [22].

NOD-подобные рецепторы. NOD-подобные рецепторы (nod-like-receptors, NLR) принадлежат к семейству паттерн-распознающих рецепторов и выполняют функцию, аналогичную TLR. Показано, что у человека имеется полиморфизм гена NLRP3, связанный с АГ [23]. NLRP3 совместно с другими внутриклеточными белками инициирует каскад, приводящий к синтезу IL-1 β и активации врожденного звена СИ, что установлено в экспериментальных моделях АГ и в исследованиях *in vitro* на моноцитах беременных женщин с преэклампсией.

Механизмы участия TLR и NLR в формировании АГ в настоящее время продолжают активно изучаться.

Адаптивный иммунитет и артериальная гипертензия

Тимус. Активация и дифференциация лимфоцитов связана с тимусом. Показано, что у крыс со спонтанной гипертензией линии SHR через 5 недель после рождения формировались высокие уровни АД, а максимальные уровни АД развились через 15-20 недель. Трансплантация тимуса от новорожденных нормотензивных крыс линии Wistar крысам линии SHR задерживала развитие гипертензии от 5 до 32 недель и снижала уровни АД. Кроме того, после внутрибрюшных инъекций экстракта клеток тимуса также наблюдалось снижение уровня АД у взрослых особей линии SHR [24].

В работе S.D. Crowley и соавт. [25] установлено, что у мышей с тяжелым комбинированным иммунодефицитом гипертензия не развивалась.

T-лимфоциты. Основные эффекторные клетки адаптивного иммунитета представлены T-лимфоцитами, несущими на своей мембране молекулы CD4 (T-хелперы, Th) или молекулы CD8 (цитотоксические T-лимфоциты), и B-лимфоцитами.

В работе А.Е. Norlander и соавт. [3] показано накопление T-клеток и моноцитов / макрофагов, секретирующих провоспалительные цитокины, преимущественно в адвентиции сосудов и периваскулярной жировой ткани, а также в мозговом веществе и коре почек, что сопровождалось высоким уровнем АД.

В экспериментальных работах на мышах

и крысах было показано ослабление развития гипертензии при нокауте гена, активирующего рекомбиназы 1 и 2 (recombinase activating genes, RAG-1 и RAG-2), которые кодируют рецептор Т-клетки и иммуноглобулины [26].

D.W. Trott и соавт. [27] определили, что цитотоксические CD8⁺-клетки продуцируют IFN- γ и накапливаются в почках, причем у мышей без CD8⁺-клеток развивался менее выраженный гипертензивный ответ на введение АТ II в сравнении с мышами без CD4⁺-клеток.

Сообщается, что у пациентов молодого возраста с АГ повышено содержание циркулирующих CD8⁺-цитотоксических Т-клеток с дефицитом CD28 (лиганд CD80 и CD86 на APC), вырабатывающих избыточное количество IFN- γ , перфорина и гранзима [28]. Напротив, потеря костимулирующих рецепторов стареющими Т-клетками исключала их активацию, но сопровождалась повышенным синтезом IL-6, TNF- α , IFN- γ .

Под влиянием АТ II наблюдается увеличение количества CD3⁺ и CD4⁺ – Т-хелперов, клеток памяти (CD45RO) в почках, а также активация В-клеток, возрастание сывороточного иммуноглобулина класса G [26]. Накапливающиеся клинические и экспериментальные данные указывают на то, что АТ II обладает цитокиноподобной активностью, стимулирует продукцию цитокинов, запускающих развитие воспаления и экспрессию молекул клеточной адгезии на лейкоцитах [29].

После распознавания антигенного пептида, представленного в комплексе с молекулами HLA-системы, наивные Т-хелперы начинают дифференцироваться в субпопуляции Т-хелперов: Th1, Th2, Th9, Th17, регуляторные Т-лимфоциты (Treg). В зависимости от патогена и цитокинового микроокружения возможна преимущественная активация разных типов эффекторных клеток, ответственных за определенный комплекс реакций. Данные экспериментальных исследований показали ключевую роль Th1, Th2, Th17 и Treg в развитии гипертензии. При АГ отмечается дисбаланс между Th1 и Th2 типа в сторону преобладания активности Th1, который реализует свою активность посредством секреции INF- γ . Сообщается, что уровень сывороточного INF- γ увеличивался у пациентов с АГ, как и уровень IL-17, продуцируемого Th17, при этом количество Th2 и уровень IL-4 снижались [30]. Однако в других клинических исследованиях не было обнаружено

изменений уровня IL-4 у пациентов с АГ [31].

Полагают, что высокое потребление соли может вызвать общий дисбаланс иммунного гомеостаза путем стимулирования активации Т-клеток, что характерно для солезависимой АГ [32]. В исследовании M. Kleinewietfeld и соавт. [33] описано влияние хлорида натрия на поляризацию Т-хелперов в Th17-фенотип.

В работе Z. Liu и соавт. [34] сообщалось, что повышенный уровень Th17 у пациентов с АГ с атеросклеротической бляшкой сонной артерии может быть снижен приемом телмисартана и розувастатина.

Th17 активируются с образованием IL-17, IL-21, IL-22. Основным цитокином Th17 является IL-17, имеющий несколько изоформ (IL-17A, IL-17B, IL-17C, IL-17D, IL-17E и IL-17F), наиболее распространенные из которых – IL-17A и IL-17F. В контролируемых клинических исследованиях выявлено возрастание в сыворотке крови уровня IL-17 и циркулирующих Th17 у пациентов с АГ [30].

В экспериментальной работе показано, что для пролиферации Th17 необходимы IL-23 и IL-6. Так, мыши, лишённые IL-6, имеют более низкие уровни АД и эндотелиальной дисфункции [35].

Т-регуляторные клетки. Т-регуляторные клетки составляют 5-10% от всех CD4⁺-лимфоцитов, имеют фенотип CD4⁺CD25⁺FoxP3⁺, продуцируют иммуносупрессивные цитокины IL-10 и трансформирующий фактор роста β (transforming growth factor β , TGF- β). Было показано, что повышение уровня Treg при АТ II- и альдостерон-индуцированной гипертензии снижает уровень АД [36].

У крыс с экспериментальной гипертензией наблюдалось резкое увеличение Th17 и снижение Treg в сыворотке крови. Лечение моноклональными антителами против IL-17A снижало уровень АД и отложение коллагена I типа в сосудах сердца и почек [37].

В-лимфоциты. Некоторые исследования показывают увеличение сывороточных иммуноглобулинов у пациентов с АГ [38].

У мышей с дефицитом рецептора фактора, активирующего В-лимфоциты (B cell-activating factor receptor, BAFF-R), не наблюдалась АГ в ответ на введение АТ II, но ответ восстанавливался при переносе В-клеток, экспрессирующих BAFF-R [39].

Цитокины и артериальная гипертензия

Цитокины представляют собой белково-пептидные факторы, секретируемые клетками врожденного и адаптивного иммунитета, осуществляющие регуляцию межклеточных и межсистемных взаимодействий в организме. К наиболее значимым для АГ цитокинам относят TNF- α , IFN- γ , IL-1, IL-6, IL-17 и IL-10.

Фактор некроза опухоли альфа. TNF- α продуцируется Т-лимфоцитами, макрофагами, фибробластами, эндотелиальными и нейрональными клетками. Во многих экспериментальных работах показано, что TNF- α является основным цитокином, повышающим АД и повреждающим почки. Он ухудшает способность эндотелия продуцировать NO, что приводит к сужению сосудов и задержке натрия [40]. На различных моделях гипертензии показано, что блокада TNF- α его антагонистом – этанерцептом снижает АД и уменьшает повреждение почек. Однако при лечении пациентов с аутоиммунными заболеваниями антагонистами TNF- α эффекты снижения АД не подтверждаются.

Известно о взаимодействии провоспалительных цитокинов TNF- α и IL-6 с системами, регулирующими АД, а именно с симпатической нервной системой и ренин-ангиотензин альдостероновой системой [41]. Ангиотензин II усиливает синтез IL-6 и TNF- α , активирует NF- κ B. Введение антител к IL-6 приводит к снижению инфильтрации почек моноцитами / макрофагами, уменьшает гломерулосклероз и протеинурию [42].

Интерферон γ . INF- γ является основным цитокином Th1, вырабатывается CD8⁺-клетками, естественными киллерами. Обнаружено увеличение INF- γ -образующих Т-клеток у мышей с гипертензией [43].

Было высказано предположение, что инфильтрирующие почечные каналцы Т-лимфоциты секретируют INF- γ и могут модулировать локальную выработку ангиотензиногена в клетках почечных проксимальных каналцев. Ангиотензиноген затем превращается в АТ I и АТ II в эпителиальных клетках каналцев, что усиливает реабсорбцию натрия и способствует развитию гипертензии [44].

Интерлейкин 1 β . IL-1 β продуцируется клетками врожденного иммунитета. Его роль в формировании гипертензии была доказана в работах, демонстрирующих, что ингибирование IL-1 или блокада рецепторов к IL-1 оказывает гипотензивное действие [45]. В связи с наличием

лекарственных средств, блокирующих рецептор IL-1 (анакинра, канакинумаб), применяемых при иммуновоспалительных заболеваниях, большой интерес представляют дальнейшие исследования по изучению возможности использования этих препаратов при лечении АГ.

Интерлейкин-6. Провоспалительный и иммунорегуляторный цитокин IL-6 продуцируется клетками врожденного иммунитета и Th1. Под действием IL-6 происходит дифференцировка В-лимфоцитов и активация Т-клеток. Доказано участие IL-6 в повреждении органов-мишеней при АГ. Так, блокирование IL-6 у мышей уменьшало повреждение почек и вызывало снижение АД [42].

Обнаружено, что уровень IL-6 имеет прямо пропорциональную корреляцию с уровнем АД и снижается при лечении блокаторами АТ II [46]. Введение АТ II лицам без АГ увеличивает уровень IL-6, который снижался под действием антагониста альдостерона (спиронолактон) [47]. Возможности иммунотерапии блокаторами IL-6 (тоцилизумаб, сарилумаб) при АГ до настоящего времени не изучались.

Интерлейкин 17. IL-17 является провоспалительным цитокином, продуцируется Th17 - субпопуляцией CD4⁺-клеток, в меньшей степени – врожденными Т-лимфоцитами с γ - и δ -рецепторами, естественными киллерами, CD8⁺ - Т-клетками и В-лимфоцитами.

Было обнаружено, что ангиотензин II - индуцированная гипертензия не поддерживается у IL-17 - дефицитных мышей, а высокий уровень IL-17 может координировать воспалительный ответ при гипертензии, повышая инфильтрацию сосудистой стенки лейкоцитами и Т-клетками [48].

Совместное введение IL-17 с TNF- α повышало экспрессию хемокинов (CXCL2, CCL5, CCL7, CCL8 и др.), а введение IL-17 повышало уровень иммуносупрессивного цитокина IL-10 и способствовало ослаблению АТ II - индуцированной гипертензии [49]. Однако в отношении эффектов действия хемокина CCL5 имеются и противоположные результаты.

Высвобождаясь из Th17 и Th1, IL-17A совместно с IFN- γ активируют ренин-ангиотензин альдостероновую систему, могут стимулировать или активировать транспортные каналы в проксимальных и дистальных извитых каналцах почек, вызывают задержку натрия и воды [8, 43].

Интерлейкин 10. IL-10 является противовоспалительным, иммуносупрессивным цитоки-

ном, продуцируется многими клетками СИ, но преимущественно Тreg. Существуют экспериментальные доказательства того, что IL-10 оказывает защитное действие при гипертензии, в том числе при гестационной гипертензии [50].

Несмотря на значительный прогресс в понимании роли цитокинов в развитии АГ, остается не полностью выясненным значение цитокинов в регулировании АД.

Заключение

Представленный обзор исследований, проведенных в последние десятилетия, убедительно демонстрирует важную роль системы иммунитета в формировании АГ и повреждении органов-мишеней. После воздействия АГ II, катехоламинов, повреждающих агентов (механических, инфекционных, обменных, иммуннокомплексных и др.) может происходить повреждение эндотелия сосудов, сопровождающееся чрезмерной активацией иммунного ответа, что приводит к инфильтрации периваскулярных областей артерий и артериол моноцитами / макрофагами, эффекторными Т-клетками, секретирующими провоспалительные цитокины (TNF- α , IFN- γ , IL-1, IL-6, IL-17 и др.). Для АГ характерно повышение сывороточных уровней провоспалительных цитокинов, активация воспалительного ответа путем их взаимодействия с регулирующими АД системами (ренин-ангиотензин альдостероновая, вегетативная нервная), а также дисбаланс между провоспалительными и противовоспалительными цитокинами. В целом, это способствует дисфункции и повреждению органов-мишеней.

В дальнейшем актуальным является определение роли конкретных типов клеток и факторов СИ в иммунопатогенезе АГ, изучение молекулярных механизмов ее развития с целью разработки целенаправленной иммунотерапии. Регулирование активности врожденного иммунитета и эффекторных Т- и В-клеток может открыть новые возможности для профилактики и лечения АГ.

Литература

- Worldwide trends in blood pressure from 1975 to 2015: a pooled analysis of 1479 population-based measurement studies with 19.1 million participants / NCD Risk Factor Collaboration // *Lancet*. – 2017 Jan. – Vol. 389, N 10064. – P. 37–55.
- 2018 ESH/ESC guidelines for the management of arterial hypertension: the task force for the management of arterial hypertension of the European Society of Hypertension (ESH) and of the European Society of Cardiology (ESC) / B. Williams [et al.] // *Eur. Heart J.* – 2018 Sep. – Vol. 39, N 1. – P. 3021–3104.
- Norlander, A. E. The immunology of hypertension / A. E. Norlander, M. S. Madhur, D. G. Harrison // *J. Exp. Med.* – 2018 Jan. – Vol. 215, N 1. – P. 21–33.
- Antagonist of C5aR prevents cardiac remodeling in angiotensin II-induced hypertension / C. Zhang [et al.] // *Am. J. Hyperten.* – 2014 Jun. – Vol. 27, N 6. – P. 857–864.
- Ashok, M. L. Complement C3 levels in metabolic syndrome / M. L. Ashok, V. N. Prashanth, K. Hemanth // *Int. J. Basic Med. Science.* – 2017 Jun. – Vol. 7, N 5.
- McKenzie, A. Innate lymphoid cells in inflammation and immunity / A. McKenzie, H. Spits, G. Eberl // *Immunity.* – 2014 Sep. – Vol. 41, N 3. – P. 366–374.
- Angiotensin II-induced vascular dysfunction depends on interferon- γ -driven immune cell recruitment and mutual activation of monocytes and NK-cells / S. Kossmann [et al.] // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* – 2013 Jun. – Vol. 33, N 6. – P. 1313–1319.
- Interleukin 17 promotes angiotensin II-induced hypertension and vascular dysfunction / M. S. Madhur [et al.] // *Hypertension.* – 2010 Feb. – Vol. 55, N 2. – P. 500–507.
- Inflammation and apparent treatment-resistant hypertension in patients with chronic kidney disease: the results from the CRIC Study / J. Chen [et al.] // *Hypertension.* – 2019 Apr. – Vol. 73, N 4. – P. 785–793.
- Lysozyme M-positive monocytes mediate angiotensin II-induced arterial hypertension and vascular dysfunction / P. Wenzel [et al.] // *Circulation.* – 2011 Sep. – Vol. 124, N 12. – P. 1370–1381.
- Involvement of bone marrow cells and neuroinflammation in hypertension / M. M. Santisteban [et al.] // *Circ. Res.* – 2015 Jul. – Vol. 117, N 2. – P. 178–191.
- Inhibition and genetic ablation of the B7/CD28 T-cell costimulation axis prevents experimental hypertension / A. Vinh [et al.] // *Circulation.* – 2010 Dec. – Vol. 122, N 24. – P. 2529–2537.
- Macrophage depletion lowers blood pressure and restores sympathetic nerve α 2-adrenergic receptor function in mesenteric arteries of DOCA-salt hypertensive rats / L. V. Thang [et al.] // *Am. J. Physiol. Circ. Physiol.* – 2015 Oct. – Vol. 309, N 7. – P. H1186–H1197.
- Kared, H. T cells and their cytokines in persistent stimulation of the immune system / H. Kared, X. Camous, A. Larbi // *Curr. Opin. Immunol.* – 2014 Aug. – Vol. 29. – P. 79–85.
- DC isoketal-modified proteins activate T cells and promote hypertension / A. Kirabo [et al.] // *J. Clin. Invest.* – 2014 Oct. – Vol. 124, N 10. – P. 4642–4656.
- Proteasomal processing of albumin by renal dendritic cells generates antigenic peptides / D. Macconi [et al.] // *J. Am. Soc. Nephrol.* – 2009 Jan. – Vol. 20, N 1. – P. 123–130.
- McGettrick, A. F. Localisation and trafficking of Toll-like receptors: an important mode of regulation / A. F. McGettrick, L. A. O'Neill // *Curr. Opin. Immunol.* – 2010 Feb. – Vol. 22, N 1. – P. 20–27.
- Rodriguez-Iturbe, B. Autoimmunity in the pathogenesis of hypertension / B. Rodriguez-Iturbe // *Hypertension.* – 2015. – Vol. 67, N 3. – P. 477–483.
- Rosin, D. L. Dangers within: DAMP responses to damage and cell death in kidney disease / D. L. Rosin, M. D. Okusa // *J.*

- Am. Soc. Nephrol. – 2011 Mar. – Vol. 22, N 3. – P. 416–425.
20. Toll-like receptor 4 inhibition reduces vascular inflammation in spontaneously hypertensive rats / G. F. Bomfim [et al.] // *Life Sci.* – 2015 Feb. – Vol. 122. – P. 1–7.
 21. Damage-associated molecular pattern activated Toll-like receptor 4 signalling modulates blood pressure in L-NAME-induced hypertension / D. Sollinger [et al.] // *Cardiovasc. Res.* – 2014 Mar. – Vol. 101, N 3. – P. 464–472.
 22. Kleinbongard, P. TNF α in atherosclerosis, myocardial ischemia / reperfusion and heart failure / P. Kleinbongard, G. Heusch, R. Schulz // *Pharmacol. Ther.* – 2010 Sep. – Vol. 127, N 3. – P. 295–314.
 23. Kunnas, T. NLR family pyrin domain containing 3 (NLRP3) inflammasome gene polymorphism rs7512998 (C>T) predicts aging-related increase of blood pressure, the TAMRISK study / T. Kunnas, K. Maatta, S. T. Nikkari // *Immun. Ageing.* – 2015 Oct. – Vol. 12. – P. 19.
 24. Mechanisms in hypertension and target organ damage: Is the role of the thymus key? / X. Dai [et al.] // *Int. J. Mol. Med.* – 2018 Jul. – Vol. 42, N 1. – P. 3–12.
 25. Lymphocyte responses exacerbate angiotensin II-dependent hypertension / S. D. Crowley [et al.] // *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* – 2010 Apr. – Vol. 298, N 4. – P. R1089–R1097.
 26. Role of the T cell in the genesis of angiotensin II induced hypertension and vascular dysfunction / T. J. Guzik [et al.] // *J. Exp. Med.* – 2007 Oct. – Vol. 204, N 10. – P. 2449–2460.
 27. Oligoclonal CD8+ T cells play a critical role in the development of hypertension / D. W. Trott [et al.] // *Hypertension.* – 2014 Nov. – Vol. 64, N 5. – P. 1108–1115.
 28. Immunosenescent CD8+ T cells and C-X-C chemokine receptor type 3 chemokines are increased in human hypertension / J. C. Youn [et al.] // *Hypertension.* – 2013 Jul. – Vol. 62, N 1. – P. 126–133.
 29. Шебеко, В. И. Ангиотензин II и «сигналы опасности» для иммунной системы / В. И. Шебеко, Ю. Я. Родионов // *Иммунопатология, аллергология, инфектология.* – 2007. – № 2. – С. 76–83.
 30. Circulating Th1, Th2, and Th17 levels in hypertensive patients / Q. Ji [et al.] // *Dis. Markers.* – 2017. – Vol. 2017. – P. 7146290.
 31. An imbalance in serum concentrations of inflammatory and anti-inflammatory cytokines in hypertension / S. R. Mirhafez [et al.] // *J. Am. Soc. Hypertens.* – 2014 Sep. – Vol. 8, N 9. – P. 614–623.
 32. Abais-Battad, J. M. Mechanisms of T-cell activation and pathways of hypertension / J. M. Abais-Battad, N. P. Rudemiller, D. L. Mattson // *Curr. Opin. Nephrol. Hypertens.* – 2015 Sep. – Vol. 24, N 5. – P. 470–474.
 33. Sodium chloride drives autoimmune disease by the induction of pathogenic TH17 cells / M. Kleinsteinfeld [et al.] // *Nature.* – 2013 Apr. – Vol. 496, N 7446. – P. 518–522.
 34. Treatment with telmisartan/rosuvastatin combination has a beneficial synergistic effect on ameliorating Th17/Treg functional imbalance in hypertensive patients with carotid atherosclerosis / Z. Liu [et al.] // *Atherosclerosis.* – 2014 Mar. – Vol. 233, N 1. – P. 291–299.
 35. Interleukin 6 underlies angiotensin II-induced hypertension and chronic renal damage / W. Zhang [et al.] // *Hypertension.* – 2012 Jan. – Vol. 59, N 1. – P. 136–144.
 36. Deficiency of T-regulatory cells exaggerates angiotensin II - induced microvascular injury by enhancing immune responses / M. O. Mian [et al.] // *J. Hypertens.* – 2016 Jan. – Vol. 34, N 1. – P. 97–108.
 37. Spironolactone decreases DOCA-salt-induced organ damage by blocking the activation of T helper 17 and the downregulation of regulatory T lymphocytes / C. A. Amador [et al.] // *Hypertension.* – 2014 Apr. – Vol. 63, N 4. – P. 797–803.
 38. High serum immunoglobulin G and M levels predict freedom from adverse cardiovascular events in hypertension: a nested case-control substudy of the Anglo-Scandinavian Cardiac Outcomes Trial // R. Y. Khamis [et al.] // *EBioMedicine.* – 2016 Jul. – Vol. 9. – P. 372–380.
 39. Obligatory role for B cells in the development of angiotensin II-dependent hypertension / C. T. Chan [et al.] // *Hypertension.* – 2015 Nov. – Vol. 66, N 5. – P. 1023–1033.
 40. Tumor necrosis factor-alpha produced in the kidney contributes to angiotensin II - dependent hypertension / J. Zhang [et al.] // *Hypertension.* – 2014 Dec. – Vol. 64, N 6. – P. 1275–1281.
 41. Цитокины и артериальная гипертензия / Л. Е. Шинетова [и др.] // *Вестн. КазНМУ.* – 2017. – № 1. – С. 264–268.
 42. Interleukin-6 inhibition attenuates hypertension and associated renal damage in Dahl salt-sensitive rats / S. Hashmat [et al.] // *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* – 2016 Sep. – Vol. 311, N 3. – P. F555–F561.
 43. Inflammation, immunity, and hypertensive end-organ damage / W. G. McMaster [et al.] // *Circ. Res.* – 2015 Mar. – Vol. 116, N 6. – P. 1022–1033.
 44. The intrarenal renin-angiotensin system: from physiology to the pathobiology of hypertension and kidney disease / H. Kobori [et al.] // *Pharmacol. Rev.* – 2007 Sep. – Vol. 59, N 3. – P. 251–287.
 45. Interleukin-1 receptor activation potentiates salt reabsorption in angiotensin II-induced hypertension via the NKCC2 cotransporter in the nephron / J. Zhang [et al.] // *Cell. Metab.* – 2016 Feb. – Vol. 23, N 2. – P. 360–368.
 46. Lowering of blood pressure leads to decreased circulating interleukin-6 in hypertensive subjects / G. Vazquez-Oliva [et al.] // *J. Hum. Hypertens.* – 2005 Jun. – Vol. 19, N 6. – P. 457–462.
 47. Angiotensin II induces interleukin-6 in humans through a mineralocorticoid receptor-dependent mechanism / J. M. Luther [et al.] // *Hypertension.* – 2006 Dec. – Vol. 48, N 6. – P. 1050–1057.
 48. Interleukin 17 promotes angiotensin II-induced hypertension and vascular dysfunction / M. S. Madhur [et al.] // *Hypertension.* – 2010 Feb. – Vol. 55, N 2. – P. 500–507.
 49. Role of chemokine RANTES in the regulation of perivascular inflammation, T-cell accumulation, and vascular dysfunction in hypertension / T. P. Mikolajczyk [et al.] // *FASEB J.* – 2016 May. – Vol. 30, N 5. – P. 1987–1999.
 50. The role of inflammation in the pathology of preeclampsia / A. C. Harmon [et al.] // *Clin. Sci. (Lond.).* – 2016 Mar. – Vol. 130, N 6. – P. 409–419.

Поступила 05.04.2019 г.

Принята в печать 25.07.2019 г.

References

1. NCD Risk Factor Collaboration. Worldwide trends in blood pressure from 1975 to 2015: a pooled analysis of 1479 population-based measurement studies with 19.1 million participants. *Lancet*. 2017 Jan;389(10064):37-55. doi: 10.1016/S0140-6736(16)31919-5
2. Williams B, Mancia G, Spiering W, Rosei EA, Azizi M, Burnier M, et al. 2018 ESH/ESC guidelines for the management of arterial hypertension: the task force for the management of arterial hypertension of the European Society of Hypertension (ESH) and of the European Society of Cardiology (ESC). *Eur Heart J*. 2018 Sep;39(1):3021-104. doi: 10.1093/eurheartj/ehy339
3. Norlander AE, Madhur MS, Harrison DG. The immunology of hypertension. *J Exp Med*. 2018 Jan;215(1):21-33. doi: 10.1084/jem.20171773
4. Zhang C, Li Y, Wang C, Wu Y, Du J. Antagonist of C5aR prevents cardiac remodeling in angiotensin II-induced hypertension. *Am J Hypertens*. 2014 Jun;27(6):857-64. doi: 10.1093/ajh/hpt274
5. Ashok ML, Prashanth VN, Hemanth K. Complement C3 levels in metabolic syndrome. *Int J Basic Med Science*. 2017 Jun;7(5).
6. McKenzie A, Spits H, Eberl G. Innate lymphoid cells in inflammation and immunity. *Immunity*. 2014 Sep;41(3):366-374. doi: 10.1016/j.immuni.2014.09.006
7. Kossmann S, Schwenk M, Hausding M, Karbach SH, Schmidgen MI, Brandt M, et al. Angiotensin II-induced vascular dysfunction depends on interferon- γ -driven immune cell recruitment and mutual activation of monocytes and NK-cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2013 Jun;33(6):1313-9. doi: 10.1161/ATVBAHA.113.301437
8. Madhur MS, Lob HE, McCann LA, Iwakura Y, Blinder Y, Guzik TJ, et al. Interleukin 17 promotes angiotensin II-induced hypertension and vascular dysfunction. *Hypertension*. 2010 Feb;55(2):500-7. doi: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.109.145094
9. Chen J, Bundy JD, Hamm LL, Hsu CY, Lash J, Miller ER, et al. Inflammation and apparent treatment-resistant hypertension in patients with chronic kidney disease: the results from the CRIC Study. *Hypertension*. 2019 Apr;73(4):785-793. doi: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.118.12358
10. Wenzel P, Knorr M, Kossmann S, Stratmann J, Hausding M, Schuhmacher S, et al. Lysozyme M-positive monocytes mediate angiotensin II-induced arterial hypertension and vascular dysfunction. *Circulation*. 2011 Sep;124(12):1370-81. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.111.034470
11. Santisteban MM, Ahmari N, Carvajal JM, Zingler MB, Qi Y, Kim S, et al. Involvement of bone marrow cells and neuroinflammation in hypertension. *Circ Res*. 2015 Jul;117(2):178-91. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.117.305853
12. Vinh A, Chen W, Blinder Y, Weiss D, Taylor WR, Goronzy JJ, et al. Inhibition and genetic ablation of the B7/CD28 T-cell costimulation axis prevents experimental hypertension. *Circulation*. 2010 Dec;122(24):2529-37. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.109.930446
13. Thang LV, Demel SL, Crawford R, Kaminski NE, Swain GM, Van Rooijen N, et al. Macrophage depletion lowers blood pressure and restores sympathetic nerve α 2-adrenergic receptor function in mesenteric arteries of DOCA-salt hypertensive rats. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2015 Oct;309(7):H1186-97. doi: 10.1152/ajpheart.00283.2015
14. Kared H, Camous X, Larbi A. T cells and their cytokines in persistent stimulation of the immune system. *Curr Opin Immunol*. 2014 Aug;29:79-85. doi: 10.1016/j.coi.2014.05.003
15. Kirabo A, Fontana V, de Faria AP, Loperena R, Galindo CL, Wu J, et al. DC isoketal-modified proteins activate T cells and promote hypertension. *J Clin Invest*. 2014 Oct;124(10):4642-56. doi: 10.1172/JCI74084
16. Macconi D, Chiabrando C, Schiarea S, Aiello S, Cassis L, Gagliardini E, et al. Proteasomal processing of albumin by renal dendritic cells generates antigenic peptide. *J Am Soc Nephrol*. 2009 Jan;20(1):123-30. doi: 10.1681/ASN.2007111233
17. McGettrick AF, O'Neill LA. Localisation and trafficking of Toll-like receptors: an important mode of regulation. *Curr Opin Immunol*. 2010 Feb;22(1):20-7. doi: 10.1016/j.coi.2009.12.002
18. Rodriguez-Iturbe B. Autoimmunity in the pathogenesis of hypertension. *Hypertension*. 2015;67(3):477-83.
19. Rosin DL, Okusa MD. Dangers within: DAMP responses to damage and cell death in kidney disease. *J Am Soc Nephrol*. 2011 Mar;22(3):416-25. doi: 10.1681/ASN.2010040430
20. Bomfim GF, Echem C, Martins CB, Costa TJ, Sartoretto SM, Dos Santos RA, et al. Toll-like receptor 4 inhibition reduces vascular inflammation in spontaneously hypertensive rats. *Life Sci*. 2015 Feb;122:1-7. doi: 10.1016/j.lfs.2014.12.001
21. Sollinger D, Eißler R, Lorenz S, Strand S, Chmielewski S, Aoqui C, et al. Damage-associated molecular pattern activated Toll-like receptor 4 signalling modulates blood pressure in L-NAME-induced hypertension. *Cardiovasc Res*. 2014 Mar;101(3):464-72. doi: 10.1093/cvr/cvt265
22. Kleinbongard P, Heusch G, Schulz R. TNF α in atherosclerosis, myocardial ischemia / reperfusion and heart failure. *Pharmacol Ther*. 2010 Sep;127(3):295-314. doi: 10.1016/j.pharmthera.2010.05.002
23. Kunas T, Maatta K, Nikkari ST. NLR family pyrin domain containing 3 (NLRP3) inflammasome gene polymorphism rs7512998 (C>T) predicts aging-related increase of blood pressure, the TAMRISK study. *Immun Ageing*. 2015 Oct;12:19. doi: 10.1186/s12979-015-0047-7
24. Dai X, Li H, Chen Y, Wang J, Li J, Wu Feng, et al. Mechanisms in hypertension and target organ damage: Is the role of the thymus key? *Int J Mol Med*. 2018 Jul;42(1):3-12. doi: 10.3892/ijmm.2018.3605
25. Crowley SD, Song YS, Lin EE, Griffiths R, Kim HS, Ruiz P. Lymphocyte responses exacerbate angiotensin II-dependent hypertension. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2010 Apr;298(4):R1089-97. doi: 10.1152/ajpregu.00373.2009
26. Guzik TJ, Hoch NE, Brown KA, McCann LA, Rahman A, Dikalov S, et al. Role of the T cell in the genesis of angiotensin II induced hypertension and vascular dysfunction. *J Exp Med*. 2007 Oct;204(10):2449-60. doi: 10.1084/jem.20070657
27. Trott DW, Thabet SR, Kirabo A, Saleh MA, Itani H, Norlander AE, et al. Oligoclonal CD8+ T cells play a critical role in the development of hypertension. *Hypertension*. 2014 Nov;64(5):1108-15. doi: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.114.04147
28. Youn JC, Yu HT, Lim BJ, Koh MJ, Lee J, Chang DY, et

- al. Immunosenescent CD8+ T cells and C-X-C chemokine receptor type 3 chemokines are increased in human hypertension. *Hypertension*. 2013 Jul;62(1):126-33. doi: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.113.00689
29. Shebeko VI, Rodionov YuYa. Angiotensin II and the "danger signals" for the immune system. *Immunopatologiya Allergologiya Infektologiya*. 2007;(2):76-83. (In Russ.)
 30. Ji Q, Cheng G, Ma N, Huang Y, Lin Y, Zhou Q, et al. Circulating Th1, Th2, and Th17 levels in hypertensive patients. *Dis Markers*. 2017;2017:7146290. doi: 10.1155/2017/7146290
 31. Mirhafez SR, Mohebaty M, Feiz Disfani M, Saberi Karimian M, Ebrahimi M, Avan A, et al. An imbalance in serum concentrations of inflammatory and anti-inflammatory cytokines in hypertension. *J Am Soc Hypertens*. 2014 Sep;8(9):614-23. doi: 10.1016/j.jash.2014.05.007
 32. Abais-Battad JM, Rudemiller NP, Mattson DL. Mechanisms of T-cell activation and pathways of hypertension. *Curr Opin Nephrol Hypertens*. 2015 Sep;24(5):470-4. doi: 10.1097/MNH.0000000000000146
 33. Kleinewietfeld M, Manzel A, Titze J, Kvakana H, Yosef N, Linker RA, et al. Sodium chloride drives autoimmune disease by the induction of pathogenic TH17 cells. *Nature*. 2013 Apr;496(7446):518-22. doi: 10.1038/nature11868
 34. Liu Z, Zhao Y, Wei F, Ye L, Lu F, Zhang H, et al. Treatment with telmisartan/rosuvastatin combination has a beneficial synergistic effect on ameliorating Th17/Treg functional imbalance in hypertensive patients with carotid atherosclerosis. *Atherosclerosis*. 2014 Mar;233(1):291-9. doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2013.12.004
 35. Zhang W, Wang W, Yu H, Zhang Y, Dai Y, Ning C, et al. Interleukin 6 underlies angiotensin II-induced hypertension and chronic renal damage. *Hypertension*. 2012 Jan;59(1):136-44. doi: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.111.173328
 36. Mian MO, Barhoumi T, Briet M, Paradis P, Schiffrin EL. Deficiency of T-regulatory cells exaggerates angiotensin II-induced microvascular injury by enhancing immune responses. *J Hypertens*. 2016 Jan;34(1):97-108. doi: 10.1097/HJH.0000000000000761
 37. Amador CA, Barrientos V, Peña J, Herrada AA, González M, Valdés S, et al. Spironolactone decreases DOCA-salt-induced organ damage by blocking the activation of T helper 17 and the downregulation of regulatory T lymphocytes. *Hypertension*. 2014 Apr;63(4):797-803. doi: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.113.02883
 38. Khamis RY, Hughes AD, Caga-Anan M, Chang CL, Boyle JJ, Kojima C, et al. High serum immunoglobulin G and M levels predict freedom from adverse cardiovascular events in hypertension: a nested case-control substudy of the Anglo-Scandinavian Cardiac Outcomes Trial. *EBioMedicine*. 2016 Jul;9:372-380. doi: 10.1016/j.ebiom.2016.06.012
 39. Chan CT, Sobey CG, Lieu M, Ferens D, Kett MM, Diep H, et al. Obligatory role for B cells in the development of angiotensin II-dependent hypertension. *Hypertension*. 2015 Nov;66(5):1023-33. doi: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.115.05779
 40. Zhang J, Patel MB, Griffiths R, Mao A, Song YS, Karlovich NS, et al. Tumor necrosis factor- α produced in the kidney contributes to angiotensin II-dependent hypertension. *Hypertension*. 2014 Dec;64(6):1275-81. doi: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.114.03863
 41. Shinetova LE, Omar A, Elubaeva L, Akparova AYU, Bersimbaev RI. Cytokines and arterial hypertension. *Vestn KazNMU*. 2017;(1):264-8. (In Russ.)
 42. Hashmat S, Rudemiller N, Lund H, Abais-Battad JM, Van Why S, Mattson DL. Interleukin-6 inhibition attenuates hypertension and associated renal damage in Dahl salt-sensitive rats. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2016 Sep;311(3):F555-61. doi: 10.1152/ajprenal.00594.2015
 43. McMaster WG, Kirabo A, Madhur MS, Harrison DG. Inflammation, immunity, and hypertensive end-organ damage. *Circ Res*. 2015 Mar;116(6):1022-33. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.116.303697
 44. Kobori H, Nangaku M, Navar LG, Nishiyama A. The intrarenal renin-angiotensin system: from physiology to the pathobiology of hypertension and kidney disease. *Pharmacol Rev*. 2007 Sep;59(3):251-87.
 45. Zhang J, Rudemiller NP, Patel MB, Karlovich NS, Wu M, McDonough AA, et al. Interleukin-1 receptor activation potentiates salt reabsorption in angiotensin II-induced hypertension via the NKCC2 co-transporter in the nephron. *Cell Metab*. 2016 Feb;23(2):360-8. doi: 10.1016/j.cmet.2015.11.013
 46. Vázquez-Oliva G, Fernández-Real JM, Zamora A, Vilaseca M, Badimón L. Lowering of blood pressure leads to decreased circulating interleukin-6 in hypertensive subjects. *J Hum Hypertens*. 2005 Jun;19(6):457-62.
 47. Luther JM, Gainer JV, Murphey LJ, Yu C, Vaughan DE, Morrow JD, et al. Angiotensin II induces interleukin-6 in humans through a mineralocorticoid receptor-dependent mechanism. *Hypertension*. 2006 Dec;48(6):1050-7.
 48. Madhur MS, Lob HE, McCann LA, Iwakura Y, Blinder Y, Guzik TJ, et al. Interleukin 17 promotes angiotensin II-induced hypertension and vascular dysfunction. *Hypertension*. 2010 Feb;55(2):500-7. doi: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.109.145094
 49. Mikolajczyk TP, Nosalski R, Szczepaniak P, Budzyn K, Osmenda G, Skiba D, et al. Role of chemokine RANTES in the regulation of perivascular inflammation, T-cell accumulation, and vascular dysfunction in hypertension. *FASEB J*. 2016 May;30(5):1987-99. doi: 10.1096/fj.201500088R
 50. Harmon AC, Cornelius DC, Amaral LM, Faulkner JL, Cunningham MW, Wallace K, et al. The role of inflammation in the pathology of preeclampsia. *Clin Sci (Lond)*. 2016 Mar;130(6):409-19. doi: 10.1042/CS20150702

Submitted 05.04.2019

Accepted 25.07.2019

Сведения об авторах:

Выхристенко Л.Р. – д.м.н., профессор, заведующая кафедрой врача общей практики с курсом поликлинической терапии, Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет;

Счастливленко А.И. – к.м.н., доцент кафедры врача общей практики с курсом поликлинической терапии, Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет;

Прокошина Н.Р. – к.м.н., доцент кафедры общей и клинической фармакологии с курсом ФПК и ПК, Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет.

Information about authors:

Vykhrystenka L.R. – Doctor of Medical Sciences, professor, head of the General Practitioner Chair with the course of Outpatient Therapy, Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University;

Schastlivenko A.I. – Candidate of Medical Sciences, associate professor of the General Practitioner Chair with the course of Outpatient Therapy, Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University;

Prakoshyna N.R. – Candidate of Medical Sciences, associate professor of the Chair of General and Clinical Pharmacology with the course of the Faculty for Advanced Training & Retraining, Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University.

Адрес для корреспонденции: Республика Беларусь, 210009, г. Витебск, пр. Фрунзе, 27, Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет, кафедра врача общей практики с курсом поликлинической терапии. E-mail: andrei.schastlivenko@mail.ru – Счастливленко Андрей Иванович.

Correspondence address: Republic of Belarus, 210009, Vitebsk, 27 Frunze ave., Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University, General Practitioner Chair with the course of Outpatient Therapy. E-mail: andrei.schastlivenko@mail.ru – Andrei I. Schastlivenko.

ИНФЛАММАСОМЫ И ПИРОПТОЗ ЭПИТЕЛИАЛЬНЫХ КЛЕТОК КИШЕЧНИКА: ВКЛАД В РАЗВИТИЕ БОЛЕЗНИ КРОНА И НЕСПЕЦИФИЧЕСКОГО ЯЗВЕННОГО КОЛИТА

ТКАЧЕНКО А.С.

Харьковский национальный медицинский университет, г. Харьков, Украина

Вестник ВГМУ. – 2019. – Том 18, №4. – С. 28-39.

INFLAMMASOMES AND PYROPTOSIS OF INTESTINAL EPITHELIAL CELLS: THEIR CONTRIBUTION TO CROHN'S DISEASE AND ULCERATIVE COLITIS

TKACHENKO A.S.

Kharkiv National Medical University, Kharkiv, Ukraine

Vestnik VGMU. 2019;18(4):28-39.

Резюме.

Данная обзорная работа посвящена описанию роли инфламмасом и пироптоза эпителиоцитов кишечника в развитии хронических воспалительных заболеваний кишечника – болезни Крона и неспецифического язвенного колита. Пироптоз – каспаза-1-зависимый вид клеточной смерти, опосредованный действием белка гасдермина D и сопровождающийся выделением во внеклеточную среду провоспалительных цитокинов ИЛ-1 β и ИЛ-18. В статье дана характеристика пироптоза с описанием факторов, которые приводят к его активации, функций, механизмов развития и регуляции процесса, а также описаны эффекты данного вида клеточной смерти, которые обуславливают усиление воспаления. Детально рассмотрен пироптоз эпителиальных клеток кишечника в норме и при патологии воспалительного генеза. Весомая роль инфламмасом и пироптоза эпителиальных клеток кишечника в патогенезе хронических воспалительных заболеваний кишечника обуславливает актуальность разработки и испытания антипироптоических препаратов.

Ключевые слова: пироптоз, инфламмасомы, клеточная смерть, эпителиальные клетки кишечника, хронические воспалительные заболевания кишечника, воспаление кишечника.

Abstract.

This review article deals with the role of inflammasomes and pyroptosis of intestinal epithelial cells in the development of chronic inflammatory bowel diseases: Crohn's disease and ulcerative colitis. Pyroptosis is a caspase-1-mediated mode of cell death associated with the cleavage of gasdermin D and release of pro-inflammatory cytokines IL-1 β and IL-18. The paper covers characteristics of pyroptosis with the description of its triggers, functions, mechanisms and regulation, as well as pro-inflammatory effects of this cell death mode. Pyroptosis of intestinal epithelial cells is described in detail under normal and pathological circumstances. The pivotal role of inflammasomes and pyroptosis in the pathogenesis of chronic inflammatory bowel diseases substantiates the great importance of the development and trial of antipyroptotic drugs.

Key words: pyroptosis, inflammasomes, cell death, intestinal epithelial cells, chronic inflammatory bowel diseases, intestinal inflammation.

Пироптоз – вид клеточной смерти, способствующий развитию воспаления и опосредованный образующими поры белками гасдерминами, характеризующийся высвобождением

интерлейкина-1 β (ИЛ-1 β) и интерлейкина-18 (ИЛ-18) [1, 2]. Впервые данный процесс был описан в 1992 г. как каспаза-1-зависимая смерть макрофагов, инфицированных *S.flexneri*.

Однако сам термин «пироптоз» появился лишь в 2001 г., а ключевая роль гасдерминов во внутриклеточной реализации пироптоза показана в 2015 г. [3]. В настоящее время известно, что семейство гасдерминов у человека представлено 6 белками: гасдерминами A, B, C, D, E и белком пейвакином (PJVK) [4]. Так, частично протеолизированный гасдермин D под действием каспазы-1, которая активируется при сборке мультибелкового комплекса, именуемого инфламмасомой, и каспаз-11/4/5 (каспаза-11 экспрессируется у мышей, а каспазы-4 и -5 являются ее гомологами у человека) способен при пироптозе формировать поры в цитоплазматической мембране, что приводит к набуханию и лизису клеток, а также выделению провоспалительных цитокинов ИЛ-1 β и ИЛ-18 [5, 6]. Таким образом, пироптоз как вид клеточной смерти описан для моноцитов и макрофагов в ответ на попадание бактериальных липополисахаридов (ЛПС) внутрь клетки. Пироптоз направлен на ликвидацию репликативной ниши для патогена и секрецию провоспалительных цитокинов ИЛ-1 β и ИЛ-18 для реализации иммунного ответа [7].

В то же время в последние годы было показано, что пироптоз наблюдается в эпителиоцитах кишечника и может играть роль в обеспечении гомеостаза кишечника [8, 9]. Учитывая провоспалительный характер пироптоза, интерес представляет изучение особенностей протекания и регуляции пироптотических процессов в эпителиальных клетках кишечника при хронических воспалительных заболеваниях кишечника (ХВЗК), а именно болезни Крона (БК) и неспецифическом язвенном колите (НЯК). БК характеризуется трансмуральным воспалительным поражением всех отделов желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) с более выраженным воспалением слизистой оболочки толстого кишечника, а при НЯК поражается преимущественно слизистая оболочка толстого кишечника [10]. В последние годы наблюдается очевидный прирост количества больных как НЯК, так и БК с максимальной распространенностью в европейских странах. Так, БК в Европе регистрируется у 1 из 320 человек, а уровень НЯК составляет 0,5% населения [11]. ХВЗК - полигенная и мультифакториальная патология, обусловленная комплексным взаимодействием факторов генетической и иммунологической природы с факторами внешней среды. Развитие БК и НЯК связывают с особенностями видового состава микробиома кишечника, неа-

декватным иммунным ответом на пристеночную и люминальную микрофлору, особенностями диеты, нарушением барьерной функции кишечника и т.д. [12, 13].

Показано, что при ХВЗК происходит интенсификация процессов апоптоза, некроза и некроптоза эпителиальных клеток кишечника, что оказывает различное влияние на интенсивность воспаления [14, 15]. Некроптоз и пироптоз способствуют развитию воспаления, а апоптоз снижает его интенсивность. Недавние публикации также демонстрируют существенный вклад пироптоза в нарушение целостности эпителиального барьера кишечника при ХВЗК и даже рассматривают пироптоз в качестве доминирующего вида клеточной смерти при ХВЗК [9], что обуславливает актуальность изучения роли, механизмов, регуляции пироптоза и терапевтического потенциала антипироптозных препаратов при БК и НЯК.

Целью данной обзорной работы явился анализ исследований, посвященных изучению роли инфламماسом и пироптоза эпителиальных клеток кишечника в патогенезе воспалительных заболеваний ЖКТ с целью оценки перспективности использования препаратов с антипироптозной направленностью для лечения ХВЗК.

Пироптоз: триггеры, механизм, функции и регуляция. Как описано выше, ключевыми внутриклеточными эффекторными белками пироптоза являются гасдермины, в частности гасдермин D. Важнейшее значение гасдермина D в реализации пироптоза обусловлено его способностью образовывать поры в цитоплазматической мембране, через которые во внеклеточное пространство выделяются провоспалительные цитокины ИЛ-1 β и ИЛ-18 [16, 17]. Также через данные поры происходит высвобождение ассоциированных с повреждением молекулярных паттернов (DAMPs), к которым относятся HMGB1 (высокомобильный белок группы B1), фрагменты белка ASC (apoptosis-associated speck-like protein containing a caspase-activation and recruitment domain) и ИЛ-1 α , усиливающих воспалительный ответ [7] (рис. 1).

Интересно отметить, что активация гасдермина D при пироптозе может осуществляться двумя путями: каспаза-1-зависимым и каспаза-11/4/5-зависимым (рис. 1). Первый путь получил название канонического и связан с образованием мультибелкового комплекса – инфламماسомы.

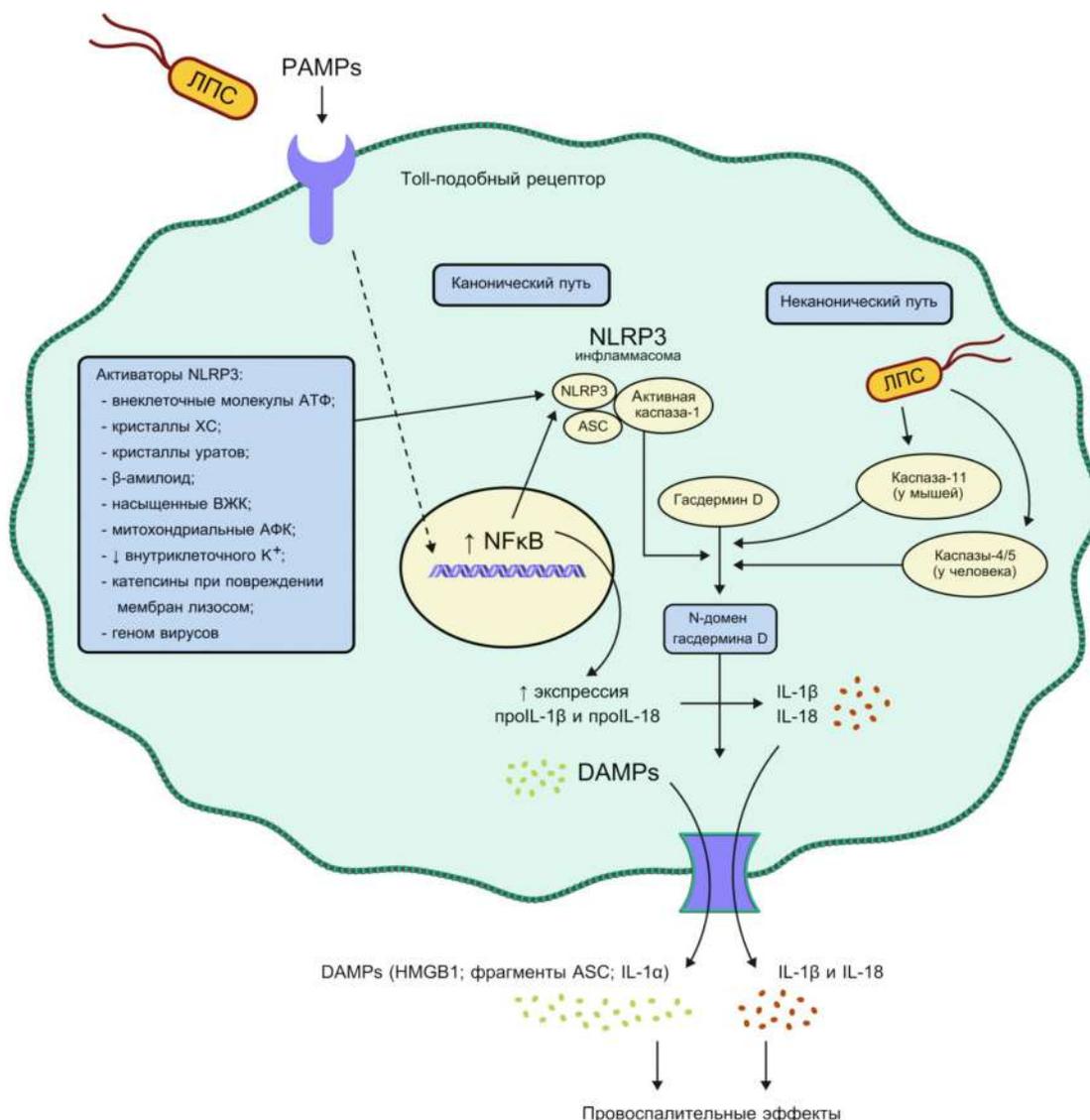


Рисунок 1 – Схема пироптоза. Пироптоз инициируется различными внутриклеточными и внеклеточными сигналами. При активации канонического пути происходит сборка инфламасомы NLRP3/ASC с последующей активацией каспазы-1. Каспаза-1 катализирует превращение неактивных предшественников ИЛ-1β и ИЛ-18 в активные формы. Неканонический путь запускается внутриклеточным бактериальным ЛПС и приводит к активации каспаз-4/5/11. Субстратом всех вышеуказанных каспаз является белок гасдермин D. Продукт его частичного протеолиза – N-домен гасдермина D – образует поры в цитоплазматической мембране клетки. Через эти поры из клетки высвобождаются провоспалительные цитокины ИЛ-1β и ИЛ-18, а также молекулы DAMPs, что приводит к усилению воспалительного процесса. Образование пор сопровождается литической гибелью клетки. Примечания: АФК – активные формы кислорода; ВЖК – высшие жирные кислоты; ЛПС – липополисахарид; ХС – холестерин; DAMPs – ассоциированные с повреждением молекулярные паттерны; HMGB1 – высокомолекулярный белок группы В1; ИЛ1α – интерлейкин 1α; ИЛ1β – интерлейкин 1β; ИЛ18 – интерлейкин 18; NF-κB – ядерный фактор транскрипции «каппа-би»; PAMPs – патоген-ассоциированные молекулярные паттерны.

К настоящему времени описано несколько типов инфламмасом, а именно: AIM2/ASC, NAIIP/NLRC4, NLRP3/ASC, пирин/ASC [18, 19]. Инфламмасома NLRP3 (nucleotide-binding domain,

leucine-rich containing family, pyrin-domain containing 3) является наиболее изученной. Как и любая другая инфламмасома, NLRP3/ASC состоит из белка-сенсора, белка-адаптора и про-

каспазы-1 (рис. 1). Белок NLRP3 выступает в качестве сенсора, функция которого заключается в регистрации сигналов, активирующих пироптоз, с последующей активацией белка-адаптора и прокаспазы-1. Белок ASC играет роль адаптерной молекулы в инфламмасоме NLRP3 и при активации белка-сенсора NLRP3 ASC стимулирует аутокаталитическое превращение прокаспазы-1 в активную форму [20]. В литературе описаны многочисленные триггеры активации NLRP3 и, как следствие, пироптоза эпителиальных клеток кишечника. В частности, продемонстрирована способность кристаллов холестерина, генерируемых митохондриями активных форм кислорода (АФК) и насыщенных жирных кислот, активировать NLRP3 различными путями (рис. 1). Кроме того, NLRP3-опосредованный канонический путь активации пироптоза запускается при повреждении мембраны лизосом и выходе из них протеолитических ферментов катепсинов, а также при снижении внутриклеточной концентрации ионов калия [21]. Последующая модификация белка-адаптора ASC активирует каспазу-1, которая расщепляет гасдермин D и высвобождает его N-домен, прободая мембрану клетки и формирующий пору (рис. 1). Однако действие каспазы-1 не ограничивается протеолитической активацией гасдермина D. Каспаза-1 также катализирует образование активных форм ИЛ-1 β и ИЛ-18 из неактивных предшественников. Затем ИЛ-1 β и ИЛ-18 секретируются во внеклеточную среду через поры, образованные гасдермином D [16] (рис. 1). Следует отметить, что накопление вышеуказанных цитокинов опосредовано усилением их экспрессии под действием провоспалительного фактора транскрипции NF κ B, активация которого происходит под действием многокомпонентного сигнального пути от Toll-подобных рецепторов (TLR). Так, одним из лигандов TLR4 является бактериальный ЛПС. Образование лиганд-рецепторного комплекса TLR4/ЛПС приводит, в конечном итоге, к активации NF κ B-опосредованной экспрессии про-ИЛ-1 β и про-ИЛ-18 [22]. Известно также, что NF κ B индуцирует экспрессию NLRP3.

ЛПС также вовлечен в запуск неканонического каспаза-11/4/5-зависимого пути пироптоза [23]. При проникновении ЛПС грамотрицательных бактерий в цитоплазму клетки молекулы ЛПС распознаются каспазой-11 (у мышей) и каспазами-4,5 (у людей) и активируют последние. Субстратом этих каспаз является гасдермин D,

расщепление которого приводит к образованию пор и пироптотической гибели клеток с высвобождением ИЛ-1 β и ИЛ-18, а также молекул DAMPs [24] (рис. 1).

Результаты исследований, посвященных изучению пироптоза, частично позволяют охарактеризовать функции этого литического пути клеточной смерти. В первую очередь, необходимо отметить тот факт, что пироптоз способствует развитию воспаления путем высвобождения ИЛ-1 β , ИЛ-18 и DAMPs из макрофагов и моноцитов. Пироптоз также направлен на элиминацию внутриклеточной инфекции (активация пироптоза внутриклеточными молекулами ЛПС) в макрофагах и разрушение «репродуктивной ниши» микроорганизмов. Патогены, которые высвобождаются из макрофагов в результате пироптоза, могут быть фагоцитированы нейтрофилами [23].

Взаимодействия между пироптозом, некроптозом и апоптозом. В настоящее время установлено, что виды смерти клетки определяют течение воспалительного процесса и зависят от совокупности сигналов, поступающих из микроокружения клетки. Внутриклеточные сигнальные пути различных видов клеточной смерти тесно переплетены, взаимодействуя друг с другом по типу прямой и обратной связи, что позволяет клетке осуществить запасной путь «самоубийства» при невозможности реализации первоначально запущенного механизма клеточной смерти. Подобная «пластичность» гарантирует элиминацию поврежденных или инфицированных патогенами клеток.

Несколько исследований последних лет показали, что молекулярные регуляторы и внутриклеточные сигнальные пути пироптоза взаимосвязаны с эффекторами апоптоза и некроптоза [7, 25, 26]. Апоптоз, впервые описанный в 1972 г. Керр и соавторами, является каспаза-зависимой запрограммированной нелитической гибелью клетки [25]. Поскольку при апоптозе не повреждается мембрана и молекулы DAMPs не выходят во внешнюю среду, данный вид клеточной смерти рассматривается как не способствующий развитию воспаления. В то же время некроптоз – каспаза-независимый вид клеточной смерти, реализуемый через взаимодействующие с рецептором серин-треониновые протеинкиназы 1 и 3 (RIPK1 и RIPK3; receptor-interacting serine/threonine-protein kinases 1 and 3), а также псевдокиназу MLKL (mixed lineage kinase domain-like

protein) – имеет общие черты с пироптозом [7]. Оба вида клеточной смерти характеризуются лизисом клеток с выходом молекул DAMPs, что, напротив, способствует запуску воспаления за счет иммуногенных свойств DAMPs. Лизис клеток обусловлен перфорацией мембраны порообразующими белками (гасдермином D при пироптозе и MLKL при некроптозе) (рис. 2). Как пироптоз, так и некроптоз направлены на уничтожение инфицированных или поврежденных клеток.

Показано, что пироптотические сигналы активируют апоптоз, в то время как апоптотические сигналы способны ингибировать пироптоз [27] (рис. 2). Например, известно, что активированная каспаза-1 способна расщеплять про-каспазы-3 и -7, что приводит к реализации апоптоза. Некоторые авторы полагают, что данный

механизм является своего рода «страховкой», обеспечивающей обязательную гибель клетки (инфицированной патогеном), по крайней мере путем апоптоза при невозможности реализации пироптозного пути [7]. В то же время при апоптозе субстратом активных каспаз-3 и -7 является пироптотический эффектор гасдермин D. Его расщепление вышеуказанными каспазами при апоптозе блокирует пироптоз [27] (рис. 2).

Общие черты пироптотической и некроптотической гибели клеток позволяют предположить наличие взаимосвязей между двумя видами клеточной смерти, которые сопровождаются лизисом клеток. И действительно, существуют данные о подобных взаимодействиях. Показано, что псевдокиназа MLKL способна индуцировать NLRP3 [28]. Одним из возможных механизмов

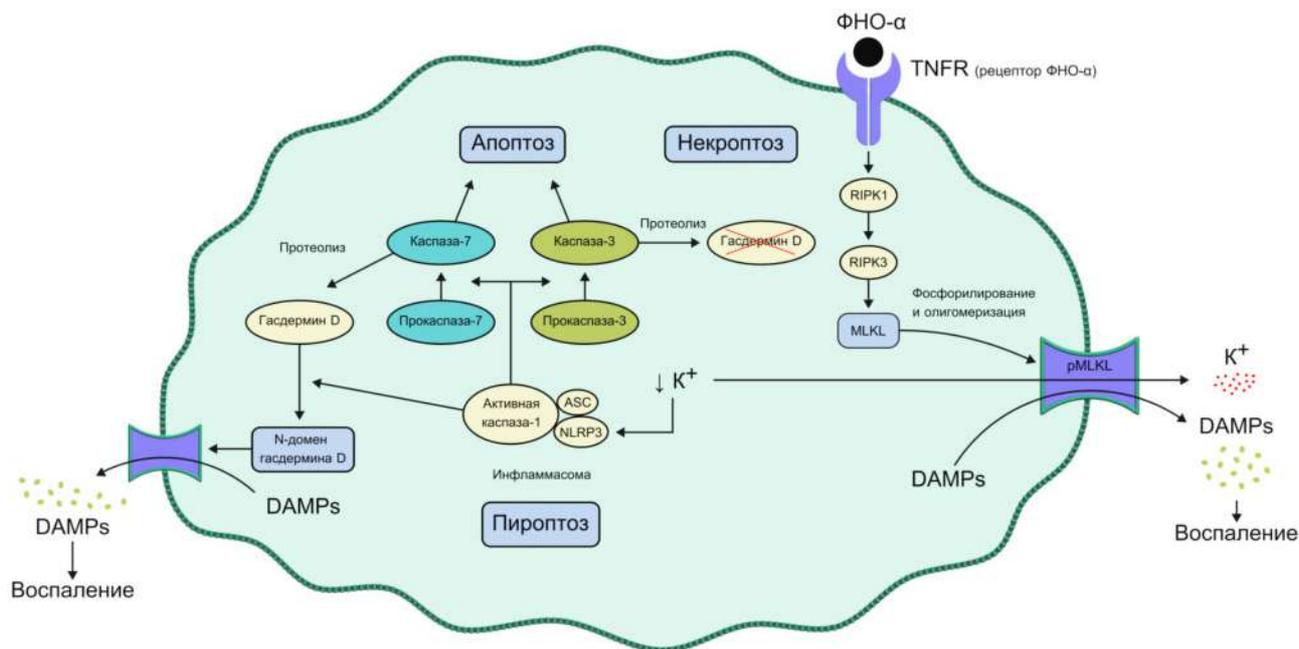


Рисунок 2 – Схема взаимосвязи различных видов клеточной смерти: апоптоза, пироптоза и некроптоза.

Внутриклеточные пути пироптоза и апоптоза пересекаются на уровне каспаз. Пироптоз может запускать апоптоз за счет активации каспазой-1 апоптотических эффекторных каспаз-3 и -7. Апоптотические каспазы, в свою очередь, ингибируют пироптоз за счет протеолиза и деградации гасдермина D. Индукция некроптоза (например, при взаимодействии ФНО-α с рецептором TNFR) приводит к последовательной активации киназ RIPK1 и RIPK3, фосфорилированию и олигомеризации псевдокиназы MLKL, что сопровождается образованием пор в мембране, и высвобождению ионов калия и молекул DAMPs. Снижение внутриклеточного содержания K⁺ обнаруживается сенсорным белком NLRP3 с последующей сборкой инфламмосомы и активацией пироптоза. Примечания: ФНО-α – фактор некроза опухолей-α; DAMPs – ассоциированные с повреждением молекулярные паттерны; TNFR – tumor necrosis factor receptor (рецептор) ФНО-α; MLKL – mixed lineage kinase domain-like protein; pMLKL – фосфорилированный белок mixed lineage kinase domain-like protein; RIPK1 – взаимодействующая с рецептором серин-треониновая протеинкиназа 1 (receptor-interacting serine/threonine-protein kinase 1); RIPK3 – взаимодействующая с рецептором серин-треониновая протеинкиназа 3 (receptor-interacting serine/threonine-protein kinase 3).

MLKL-опосредованной индукции NLRP3 является выход ионов калия из клеток через поры, образованные MLKL (рис. 2). Внутриклеточная MLKL-зависимая активация NLRP3 приводит к «созреванию» и секреции ИЛ-1 β до лизиса клеток.

Несмотря на значительные успехи последних лет в изучении взаимодействия сигнальных путей различных видов клеточной смерти, многие вопросы в этой области остаются нераскрытыми. Особый интерес представляет поиск общих эффектов для разных провоспалительных видов клеточной смерти, поскольку они могут быть использованы в качестве мишеней для разработки новых противовоспалительных препаратов.

Роль пироптоза эпителиоцитов в регуляции гомеостаза кишечника. Поддержание целостности барьера слизистой оболочки кишечника играет значимую роль в регуляции гомеостаза. Эпителий кишечника характеризуется чрезвычайно высокими темпами обновления. Ежедневно в просвет кишечника слущивается около 1010 эпителиоцитов [29]. Обновление происходит за счет Notch-опосредованной дифференцировки стволовых клеток кишечника [30]. Эпителиальные клетки кишечника находятся в постоянном контакте с микробными и пищевыми антигенами, обеспечивая иммунологическую толерантность, необходимую для поддержания гомеостаза. В последние годы показано, что пироптоз эпителиоцитов кишечника может влиять на иммунологическую толерантность [31-33].

Показано, что в эпителиальных клетках кишечника экспрессируются необходимые для реализации пироптоза белки NAIP, NLRP1, NLRP6, NLRC4, AIM2, белок-адаптор инфламмосомы ASC, ИЛ-18, каспаза-1 и каспазы-4/5/11 [32, 34, 35]. Соответственно в клетках эпителиальной выстилки кишечника описан как канонический, так и неканонический путь пироптотической гибели [31-33].

Лишь несколько лет назад стали появляться первые сведения о значении инфламмосом и пироптоза эпителиоцитов кишечника для нормального функционирования органа. Так, показано, что инфламмосомы модулируют ответ со стороны эпителия при взаимодействии с люминальными факторами (например, микрофлорой кишечника). В частности, пироптоз эпителиоцитов, инфицированных бактериями, обеспечивает элиминацию микроорганизмов, предотвращая проникновение микроорганизмов в более глубо-

кие слои стенки кишечника. Описан механизм активации NAIP/NLRC4 инфламмосом в ответ на наличие внутри эпителиальной клетки кишечника бактериального белка флагеллина, формирующего филаменты жгутиков бактерий [36]. При этом белок NAIP выступает в качестве «сенсора» флагеллина, что приводит к сборке инфламмосомы с последующим вовлечением каспазы-1. В то же время, существуют противоречия в отношении последующей судьбы клетки при активации инфламмосомы. Так, Rauch et al. продемонстрировали, что при сборке инфламмосомы клетка подвергается пироптозу [31]. Однако данный вывод противоречит результатам Sellin et al., утверждающим, что пироптоз не обязательно следует за активацией инфламмосом [32]. По данным Sellin et al., активирование NAIP/NLRC4 инфламмосом в клетках кишечника при попадании патогена в клетку (в частности, *S.typhimurium*) приводит к нелигандному «выталкиванию» (expulsion) инфицированного эпителиоцита в просвет кишечника без его литической гибели, что также может рассматриваться в качестве защитного механизма, направленного на предотвращение дальнейшей экспансии микроорганизма вглубь органа [32].

Еще одним из возможных механизмов, с помощью которого инфламмосомы и пироптоз эпителиальных клеток кишечника регулируют взаимоотношения в системе «макроорганизм-кишечная микрофлора», является высвобождение клетками кишечника при сборке NAIP/NLRC4 инфламмосомы простагландина PGE2. PGE2 стимулирует секрецию жидкости в просвет кишечника с развитием диареи, что способствует элиминации патогенов с калом [31].

Помимо элиминации инфицированных микроорганизмами клеток, пироптоз эпителиальных клеток кишечника служит источником ИЛ-18. В норме эпителиоциты кишечника являются основным продуцентом ИЛ-18, а данный цитокин играет существенную роль в поддержании гомеостаза, сохраняя целостность барьерного слоя и регулируя состав микробиоты кишечника [34]. ИЛ-18, высвобождающийся из клеток кишечного эпителия, также регулирует процессы их созревания и пролиферации [37]. Levy et al. показали, что секреция эпителиоцитами кишечника ИЛ-18 происходит в ответ на активацию NLRP6 инфламмосомы бактериальными метаболитами (например таурином) [38].

Активация инфламмосом в эпителиальных клетках кишечника также происходит под дей-

ствием некоторых компонентов пищи. В частности, показано, что диета с высоким содержанием холестерина и насыщенных триглицеридов приводит к сборке инфламмасом в интестинальных эпителиоцитах с развитием воспаления [35].

Таким образом, роль инфламмасом и пироптоза в кишечнике заключается в регуляции взаимодействия между макроорганизмом, микрофлорой и пищевыми факторами путем секреции регуляторного ИЛ-18 и элиминации инфицированных клеток.

Роль инфламмасом и пироптоза при воспалительных заболеваниях кишечника. Известно, что нарушение барьерной функции кишечника, которое приводит к вовлечению пристеночной и люминальной микрофлоры в воспалительный процесс, имеет большое значение в патогенезе ХВЗК [39]. Учитывая роль пироптоза в поддержании целостности эпителиального барьера кишечника и элиминации клеток эпителия, инфицированных бактериями, пироптоз играет важную роль в развитие ХВЗК. В то же время показано, что при ХВЗК наблюдается гиперэкспрессия ИЛ-1 β и ИЛ-18, что обуславливает их вовлечение в регуляцию интенсивности воспаления при БК и НЯК [40]. Например, продемонстрировано, что тяжесть ХВЗК коррелирует с уровнями ИЛ-1 β [41]. Несмотря на то, что ИЛ-18, который продуцируется эпителиальным слоем кишечника, описан как провоспалительный цитокин, он также обеспечивает целостность эпителиального барьера. Подобные данные обосновывают актуальность изучения роли инфламмасом и пироптоза эпителиоцитов кишечника в патогенезе ХВЗК как *in vitro*, так и с использованием экспериментальных моделей энтероколита.

Анализ работ, посвященных изучению эффектов активации инфламмасом и пироптоза при ХВЗК, показал противоречивые результаты. Вовлечение пироптоза, в том числе и клеток эпителия кишечника, в патогенез ХВЗК показано во многих работах [8, 42, 43]. Например, Yuan et al. продемонстрировали повышение экспрессии компонентов пироптозного пути (NLRP3, каспазы-1 и гасдермина D) в эпителиальных клетках кишечника при ХВЗК [8]. Liu et al. подтверждают повышение NLRP3, ASC и ИЛ-1 β в клетках слизистой оболочки толстого кишечника у больных БК, но не НЯК [44]. Отмечается, что синтез ИЛ-1 β и ИЛ-18, опосредованный активацией инфламмасы NLRP3, усугубляет течение вос-

палительного процесса. В частности, может быть предложено объяснение механизма усиления воспалительной реакции при патологии ЖКТ в ответ на сборку инфламмасы NLRP3, при котором происходит активации каспазы-1 и высвобождение ИЛ-18 колоноцитами, который, в свою очередь, стимулирует экспрессию и высвобождение других провоспалительных цитокинов – ФНО- α , ИЛ-1 и ИЛ-6, что приводит к усилению воспалительного ответа при БК [45]. Nowarski et al. показали, что нокаут генов ИЛ-18 и его рецептора IL-18r1 у мышей обеспечивают протективное действие при экспериментальном колите [46]. Однако существует и противоположное мнение. В некоторых других работах с использованием экспериментальных моделей колита у мышей было подтверждено, что NLRP3-зависимая секреция ИЛ-18 оказывает положительное влияние на течение воспаления [47, 48]. Данные эффекты обусловлены стимуляцией секреции γ -интерферона, который регулирует пролиферацию клеток и репаративные процессы в ЖКТ [49].

Интересно отметить, что в отличие от ИЛ-18, ИЛ-1 β при ХВЗК секретируется, в первую очередь, макрофагами, а не эпителиальными клетками. Вдобавок, ИЛ-1 β , который высвобождается из клеток при сборке инфламмасы NAIP/NLRC4, привлекает нейтрофилы в очаг воспаления, что сопровождается усилением воспалительного ответа [50]. Однако, по некоторым данным, полученным в экспериментах на животных при моделировании воспаления кишечника, повышение экспрессии ИЛ-1 β при ХВЗК является защитным механизмом, направленным на элиминацию *S.difficile* и *S.rodentium* путем усиления фагоцитоза [51, 52].

Противоречивость роли инфламмасом и пироптоза при ХВЗК также подтверждается результатами исследований, проведенных на животных с нокаутом гена, кодирующего NLRP3. У мышей с дефицитом NLRP3 колит, индуцированный декстран сульфатом натрия (DSS) и тринитробензолсульфоновой кислотой (TNBS), протекает с менее выраженными повреждениями ткани толстого кишечника [53]. В то же время, некоторые авторы приходят к полностью противоположному выводу и указывают на усиление воспалительного ответа при дефиците NLRP3 [54-56]. Одним из механизмов, обуславливающих интенсификацию воспаления у мышей с нокаутом NLRP3, является нарушение элиминации микроорганизмов, а также их проникновение в

собственную пластинку слизистой оболочки кишечника при снижении активности пироптоза. Довольно сложно объяснить существенную вариабельность данных о роли NLRP3 в патогенезе ХВЗК. Liu & Li полагают, что противоположные взгляды на вклад NLRP3 в развитие воспаления кишечника обусловлены возможным влиянием микрофлоры ЖКТ экспериментальных животных и/или генетическими особенностями мышных линий, использовавшихся для моделирования колита [57].

Показано, что целостность эпителиального барьера кишечника нарушается у животных с нокаутом генов, которые кодируют другие компоненты инфламмасом и пироптотического внутриклеточного сигнального пути, а именно белка ASC и фермента каспазы-1 [55]. Обращает на себя внимание и тот факт, что DSS-индуцированный колит у мышей на фоне дефицита как каспазы-1, так и каспазы-11 протекает с более выраженным воспалением толстого кишечника и приводит к более выраженному повреждению тканей [54].

Существенная роль пироптоза эпителиальных клеток кишечника в патогенезе воспаления кишечника подтверждается положительным влиянием ингибиторов пироптоза как в условиях эксперимента на мышах с моделями колита различного генеза, так и при исследовании больных с ХВЗК. Xiong et al. продемонстрировали, что у мышей при развитии TNBS-индуцированного колита снижается степень воспалительной реакции и повреждения тканей кишечника на фоне употребления предшественника кальцитриола – холекальциферол-холестериновой эмульсии за счет подавления пироптотических сигналов и снижения интенсивности пироптоза [43]. Perera et al. продемонстрировали эффективность молекулы MCC950 – специфического ингибитора канонического и неканонического пути активации инфламмасы NLRP3 – для коррекции спонтанного хронического колита у мышей [58]. Авторами установлено снижение экспрессии пироптоз-ассоциированных ИЛ-1 β и ИЛ-18 в колоноцитах животных с колитом. По данным Davis et al., полученным с помощью иммуногистохимического исследования биоптатов кишечника у больных БК и НЯК, мезаламин является неконкурентным ингибитором каспазы-1 и способен снижать интенсивность пироптоза клеток эпителиального слоя кишечника, что позволяет уменьшить степень повреждения эпителиального барьера при ХВЗК [42]. Многообещающие результаты первых

работ, посвященных изучению влияния препаратов-ингибиторов пироптоза и активации инфламмасом на течение воспалительных заболеваний кишечника, свидетельствуют о перспективности данного терапевтического направления. Однако противоречивость данных о роли инфламмасы NLRP3, цитокинов ИЛ-1 β и ИЛ-18 в патогенезе ХВЗК, влияния ИЛ-18 на барьерную функцию ЖКТ, роли пироптоза эпителиоцитов кишечника в элиминации инфицированных клеток и предотвращении проникновения микроорганизмов в более глубокие слои кишечника обуславливают актуальность дальнейших исследований, особенно клинических, с целью более глубокого понимания роли пироптоза и инфламмасом в развитии интестинального воспаления.

Заключение

Активация мультибелкового комплекса инфламмасы NLRP3 в эпителиальных клетках кишечника опосредует секрецию цитокинов ИЛ-1 β и ИЛ-18, а также индуцирует пироптоз – литический вид клеточной смерти, который способствует усилению воспалительного ответа. Пироптоз в кишечнике обеспечивает уничтожение инфицированных бактериями клеток, препятствуя проникновению микроорганизмов вглубь, а ИЛ-18 регулирует гомеостаз, поддерживая целостность эпителиального барьера. Однако данный путь клеточной смерти характеризуется провоспалительными эффектами. Экспериментальные работы на животных в условиях моделирования воспаления кишечника и немногочисленные данные, полученные при проведении исследований с участием больных ХВЗК, указывают на усиление интенсивности пироптоза эпителиоцитов кишечника и активацию инфламмасы NLRP3 в эпителиальных клетках ЖКТ. Однако противоречивые данные касательно роли NLRP3 и пироптоза не дают оснований рассматривать их однозначно в качестве «врагов» или «друзей» при ХВЗК. Тем не менее, положительные эффекты ингибиторов инфламмасы NLRP3 и пироптоза как в условиях экспериментальных моделей колита, так и у пациентов с ХВЗК позволяют сделать предварительный вывод о гиперактивации и преобладании повреждающего действия пироптоза эпителиоцитов кишечника над защитными эффектами в условиях хронического воспаления ЖКТ. Однако данная гипотеза нуждается в более основательной экспериментальной, а главное – в клиниче-

ской доказательной базе. Несмотря на описанные протективные эффекты пироптоза эпителиальных клеток кишечника и пироптоз-ассоциированного цитокина ИЛ-18 применение ингибиторов внутриклеточных сигнальных путей пироптоза и инфламмосомы NLRP3 видится перспективным направлением в лечение ХБЗК.

Автор благодарит Антона Мирошниченко за существенную помощь в подготовке иллюстративного материала к статье.

The author expresses his sincere gratitude to Anton Miroshnichenko for his essential help while preparing illustrations for the article.

Литература

- Kovacs, S. B. Gasdermins: effectors of pyroptosis / S. B. Kovacs, E. A. Miao // Trends Cell. Biol. – 2017 Sep. – Vol. 27, N 9. – P. 673–684.
- Shi, J. Pyroptosis: Gasdermin-mediated programmed necrotic cell death / J. Shi, W. Gao, F. Shao // Trends Biochem. Sci. – 2017 Apr. – Vol. 42, N 4. – P. 245–254.
- Jorgensen, I. Pyroptotic cell death defends against intracellular pathogens / I. Jorgensen, E. A. Miao // Immunol. Rev. – 2015 May. – Vol. 265, N 1. – P. 130–142.
- Feng, S. Mechanisms of gasdermin family members in inflammasome signaling and cell death / S. Feng, D. Fox, S. M. Man // J. Mol. Biol. – 2018 Sep. – Vol. 430, N 18, pt. B. – P. 3068–3080.
- The inflammasome drives GSDMD-independent secondary pyroptosis and IL-1 release in the absence of caspase-1 protease activity / K. S. Schneider [et al.] // Cell. Rep. – 2017 Dec. – Vol. 21, N 13. – P. 3846–3859.
- Ramos-Junior, E. S. Gasdermin: A new player to the inflammasome game / E. S. Ramos-Junior, A. C. Morandini // Biomed J. – 2017 Dec. – Vol. 40, N 6. – P. 313–316.
- Frank, D. Pyroptosis versus necroptosis: similarities, differences, and crosstalk / D. Frank, J. E. Vince // Cell. Death Differ. – 2019 Jan. – Vol. 26, N 1. – P. 99–114.
- Inflammatory caspase-related pyroptosis: mechanism, regulation and therapeutic potential for inflammatory bowel disease / Y. Y. Yuan [et al.] // Gastroenterol. Rep. (Oxf.). – 2018 Aug. – Vol. 6, N 3. – P. 167–176.
- Pyroptosis of intestinal epithelial cells is crucial to the development of mucosal barrier dysfunction and intestinal inflammation / E. M. Davis [et al.] // Gastroenterol. – 2017 Apr. – Vol. 152, N 5, suppl. 1. – P. S967.
- Fourie, S. Living with inflammatory bowel disease: A review of qualitative research studies / S. Fourie, D. Jackson, H. Aveyard // Int. J. Nurs. Stud. – 2018 Nov. – Vol. 87. – P. 149–156.
- Inflammatory bowel disease / J. Wehkamp [et al.] // Dtsch. Arztebl. Int. – 2016 Feb. – Vol. 113, N 5. – P. 72–82.
- Zuo, T. The gut microbiota in the pathogenesis and therapeutics of inflammatory bowel disease / T. Zuo, S. C. Ng // Front Microbiol. – 2018 Sep. – Vol. 9. – P. 2247.
- Ko, J. K. Inflammatory bowel disease: etiology, pathogenesis and current therapy / J. K. Ko, K. K. Auyeung // Curr. Pharm. Des. – 2014. – Vol. 20, N 7. – P. 1082–1096.
- Tkachenko, A. S. Intestinal epithelial cells necroptosis and its association with intestinal inflammation / A. S. Tkachenko // J. Clin. Med. Kaz. – 2019. – Vol. 1, N 51. – P. 12–15.
- Negrini, A. Apoptosis, necrosis, and necroptosis in the gut and intestinal homeostasis / A. Negrini, S. Cucchiara, L. Stronati // Mediators Inflamm. – 2015. – Vol. 2015. – P. 250762.
- Interleukin-1 β maturation triggers its relocation to the plasma membrane for gasdermin-D-dependent and -independent secretion / M. Monteleone [et al.] // Cell. Rep. – 2018 Aug. – Vol. 24, N 6. – P. 1425–1433.
- GSDMB promotes non-canonical pyroptosis by enhancing caspase-4 activity / Q. Chen [et al.] // J. Mol. Cell. Biol. – 2018 Jun. – Vol. 11, N 6. – P. 496–508.
- AIM2 and NLRP4 inflammasomes contribute with ASC to acute brain injury independently of NLRP3 / A. Denes [et al.] // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 2015 Mar. – Vol. 112, N 13. – P. 4050–4055.
- Guo, H. Inflammasomes: mechanism of action, role in disease, and therapeutics / H. Guo, J. B. Callaway, J. P. Ting // Nat. Med. – 2015 Jul. – Vol. 21, N 7. – P. 677–687.
- Malik, A. Inflammasome activation and assembly at a glance / A. Malik, T. D. Kanneganti // J. Cell. Sci. – 2017 Dec. – Vol. 130, N 23. – P. 3955–3963.
- Molecular mechanisms regulating NLRP3 inflammasome activation / E. K. Jo [et al.] // Cell. Mol. Immunol. – 2015 Mar. – Vol. 13, N 2. – P. 148–159.
- Caspase-1: the inflammasome and beyond / G. Sollberger [et al.] // Innate Immun. – 2014 Feb. – Vol. 20, N 2. – P. 115–125.
- Man, S. M. Molecular mechanisms and functions of pyroptosis, inflammatory caspases and inflammasomes in infectious diseases / S. M. Man, R. Karki, T. D. Kanneganti // Immunol. Rev. – 2017 May. – Vol. 277, N 1. – P. 61–75.
- Cleavage of GSDMD by inflammatory caspases determines pyroptotic cell death / J. Shi [et al.] // Nature. – 2015 Oct. – Vol. 526, N 7575. – P. 660–665.
- Hurtley, S. M. Apoptosis, necrosis, and pyroptosis / S. M. Hurtley // Science. – 2016 Apr. – Vol. 352, N 6281. – P. 48–50.
- Fink, S. L. Apoptosis, pyroptosis, and necrosis: mechanistic description of dead and dying eukaryotic cells / S. L. Fink, B. T. Cookson // Infect. Immun. – 2005 Apr. – Vol. 73, N 4. – P. 1907–1916.
- Taabazuing, C. Y. Pyroptosis and apoptosis pathways engage in bidirectional crosstalk in monocytes and macrophages / C. Y. Taabazuing, M. C. Okondo, D. A. Bachovchin // Cell. Chem. Biol. – 2017 Apr. – Vol. 24, N 4. – P. 507–514.
- Active MLKL triggers the NLRP3 inflammasome in a cell-intrinsic manner / S. A. Conos [et al.] // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 2017 Feb. – Vol. 114, N 6. – P. E961–E969.
- Blander, J. M. Death in the intestinal epithelium—basic biology and implications for inflammatory bowel disease / J. M. Blander // FEBS J. – 2016 Jul. – Vol. 283, N 14. – P. 2720–2730.
- Horvay, K. Regulation of intestinal stem cells by Wnt and Notch signalling / K. Horvay, H. E. Abud // Adv. Exp. Med. Biol. – 2013. – Vol. 786. – P. 175–186.
- NAIP-NLRP4 inflammasomes coordinate intestinal epithelial cell expulsion with eicosanoid and IL-18 release via activation of caspase-1 and -8 / I. Rauch [et al.] // Immunity. – 2017 Apr. – Vol. 46, N 4. – P. 649–659.
- Epithelium-intrinsic NAIP/NLRP4 inflammasome drives

- infected enterocyte expulsion to restrict salmonella replication in the intestinal mucosa / M. E. Sellin [et al.] // Cell. Host. Microbe. – 2014 Aug. – Vol. 16, N 2. – P. 237–248.
33. Noncanonical inflammasome activation of caspase-4/caspase-11 mediates epithelial defenses against enteric bacterial pathogens / L. A. Knodler [et al.] // Cell. Host. Microbe. – 2014 Aug. – Vol. 16, N 2. – P. 249–256.
 34. Lei-Leston, A. C. Epithelial cell inflammasomes in intestinal immunity and inflammation / A. C. Lei-Leston, A. G. Murphy, K. J. Maloy // Front. Immunol. – 2017 Sep. – Vol. 8. – P. 1168.
 35. Dietary cholesterol directly induces acute inflammasome-dependent intestinal inflammation / F. Progzatky [et al.] // Nat. Commun. – 2017 Dec. – Vol. 5. – P. 5864.
 36. Zhao, Y. The NAIP-NLRC4 inflammasome in innate immune detection of bacterial flagellin and type III secretion apparatus / Y. Zhao, F. Shao // Immunol. Rev. – 2015 May. – Vol. 265, N 1. – P. 85–102.
 37. NLRP6 inflammasome orchestrates the colonic host-microbial interface by regulating goblet cell mucus secretion / M. Wlodarska [et al.] // Cell. – 2014 Feb. – Vol. 156, N 5. – P. 1045–1059.
 38. Microbiota-modulated metabolites shape the intestinal microenvironment by regulating NLRP6 inflammasome signaling / M. Levy [et al.] // Cell. – 2015 Dec. – Vol. 163, N 6. – P. 1428–1443.
 39. Chelakkot, C. Mechanisms regulating intestinal barrier integrity and its pathological implications / C. Chelakkot, J. Ghim, S. H. Ryu // Exp. Mol. Med. – 2018 Aug. – Vol. 50. – P. 103.
 40. Siegmund, B. Interleukin-1beta converting enzyme (caspase-1) in intestinal inflammation / B. Siegmund // Biochem. Pharmacol. – 2002 Jul. – Vol. 64, N 1. – P. 1–8.
 41. IL-1 β mediates chronic intestinal inflammation by promoting the accumulation of IL-17A secreting innate lymphoid cells and CD4(+) Th17 cells / M. Coccia [et al.] // J. Exp. Med. – 2012 Aug. – Vol. 209, N 9. – P. 1595–1609.
 42. P128 inhibition of intestinal epithelial cell pyroptosis and associated mucosal barrier defects is a potential therapeutic mechanism of action for mesalamine in IBD / E. M. Davis [et al.] // Gastroenterol. – 2019 Feb. – Vol. 156, N 3. – P. S88.
 43. Cholecalciferol cholesterol emulsion ameliorates experimental colitis via down-regulating the pyroptosis signaling pathway / Y. Xiong [et al.] // Exp. Mol. Pathol. – 2016 Jun. – Vol. 100, N 3. – P. 386–392.
 44. The pathogenic role of NLRP3 inflammasome activation in inflammatory bowel diseases of both mice and humans / L. Liu [et al.] // J. Crohns. Colitis. – 2017 Jun. – Vol. 11, N 6. – P. 737–750.
 45. Bioactive IL-18 expression is up-regulated in Crohn's disease / G. Monteleone [et al.] // J. Immunol. – 1999 Jul. – Vol. 163. – P. 143–147.
 46. Epithelial IL-18 equilibrium controls barrier function in colitis / R. Nowarski [et al.] // Cell. – 2015 Dec. – Vol. 163, N 6. – P. 1444–1456.
 47. NMarLRP6 function in inflammatory monocytes reduces susceptibility to chemically induced intestinal injury / S. S. Seregin [et al.] // Mucosal. Immunol. – 2017. – Vol. 10, N 2. – P. 434–445.
 48. NLRP3 inflammasome has a protective effect against oxazolone-induced colitis: a possible role in ulcerative colitis / S. Itani [et al.] // Sci. Rep. – 2016 Dec. – Vol. 6. – P. 39075.
 49. Zhen, Y. NLRP3 Inflammasome and inflammatory bowel disease / Y. Zhen, H. Zhang // Front Immunol. – 2019. – Vol. 10. – P. 276.
 50. Man, S. M. Inflammasomes in the gastrointestinal tract: infection, cancer and gut microbiota homeostasis / S. M. Man // Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol. – 2018 Dec. – Vol. 15, N 12. – P. 721–737.
 51. A balanced IL-1beta activity is required for host response to Citrobacter rodentium infection / M. Alipour [et al.] // PLoS ONE. – 2013 Dec. – Vol. 8, N 12. – P. e80656.
 52. Protective role of commensals against Clostridium difficile infection via an IL-1beta-mediated positive-feedback loop / M. Hasegawa [et al.] // J. Immunol. – 2012 Sep. – Vol. 189, N 6. – P. 3085–3091.
 53. Protective and aggravating effects of NLRP3 inflammasome activation in IBD models: influence of genetic and environmental factors / C. Bauer [et al.] // Dig. Dis. – 2012. – Vol. 30, suppl. 1. – P. 82–90.
 54. The role of NLRP3 and IL-1 β in the pathogenesis of inflammatory bowel disease / L. Mao [et al.] // Front Immunol. – 2018 Nov. – Vol. 9. – P. 2566.
 55. The NLRP3 inflammasome protects against loss of epithelial integrity and mortality during experimental colitis / M. H. Zaki [et al.] // Immunity. – 2010 Mar. – Vol. 32, N 3. – P. 379–391.
 56. The NLRP3 inflammasome functions as a negative regulator of tumorigenesis during colitis-associated cancer / I. C. Allen [et al.] // J. Exp. Med. – 2010 May. – Vol. 207, N 5. – P. 1045–1056.
 57. Liu, L. NLRP3 inflammasome in inflammatory bowel disease: friend or foe? / L. Liu, X. Li // Dig. Dis. Sci. – 2017 Sep. – Vol. 62, N 9. – P. 2211–2214.
 58. MCC950, a specific small molecule inhibitor of NLRP3 inflammasome attenuates colonic inflammation in spontaneous colitis mice / A. P. Perera [et al.] // Sci. Rep. – 2018 Jun. – Vol. 8. – P. 8618.

Поступила 10.06.2019 г.

Принята в печать 25.07.2019 г.

References

1. Kovacs SB, Miao EA. Gasdermins: Effectors of Pyroptosis. Trends Cell Biol. 2017 Sep;27(9):673-84. doi:10.1016/j.tcb.2017.05.005
2. Shi J, Gao W, Shao F. Pyroptosis: Gasdermin-mediated programmed necrotic cell death. Trends Biochem Sci. 2017 Apr;42(4):245-4. doi: 10.1016/j.tibs.2016.10.004
3. Jorgensen I. Pyroptotic cell death defends against intracellular pathogens. Immunol Rev. 2015 May;265(1):130-42. doi: 10.1111/imr.12287
4. Feng S, Fox D, Man SM. Mechanisms of gasdermin family members in inflammasome signaling and cell death. J Mol Biol. 2018 Sep;430(18 Pt B):3068-80. doi: 10.1016/j.jmb.2018.07.002
5. Schneider KS, Groß CJ, Dreier RF, Saller BS, Mishra R, Gorka O, et al. The inflammasome drives GSDMD-independent secondary pyroptosis and IL-1 release in the absence of caspase-1 protease activity. Cell Rep. 2017 Dec; 21(13):3846-59. doi: 10.1016/j.celrep.2017.12.018
6. Ramos-Junior ES, Morandini AC. Gasdermin: A new player to the inflammasome game. Biomed J. 2017 Dec;40(6):313-16.

- doi: 10.1016/j.bj.2017.10.002
7. Frank D, Vince JE. Pyroptosis versus necroptosis: similarities, differences, and crosstalk. *Cell Death Differ.* 2019 Jan;26(1):99-114. doi: 10.1038/s41418-018-0212-6
 8. Yuan YY, Xie KX, Wang SL, Yuan LW. Inflammatory caspase-related pyroptosis: mechanism, regulation and therapeutic potential for inflammatory bowel disease. *Gastroenterol Rep (Oxf).* 2018 Aug;6(3):167-76. doi:10.1093/gastro/goy011
 9. Davis EM, Kaufmann Y, Goyne H, Wang Y, Chen T, Theus S, et al. Pyroptosis of intestinal epithelial cells is crucial to the development of mucosal barrier dysfunction and intestinal inflammation. *Gastroenterology.* 2017 Apr;152(5 Suppl 1):S967.
 10. Fourie S, Jackson D, Aveyard H. Living with inflammatory bowel disease: A review of qualitative research studies. *Int J Nurs Stud.* 2018 Nov;87:149-56. doi: 10.1016/j.ijnurstu.2018.07.017
 11. Wehkamp J, Götz M, Herrlinger K, Steurer W, Stange EF. Inflammatory bowel disease. *Dtsch Arztebl Int.* 2016 Feb;113(5):72-82. doi: 10.3238/arztebl.2016.0072
 12. Zuo T, Ng SC. The gut microbiota in the pathogenesis and therapeutics of inflammatory bowel disease. *Front Microbiol.* 2018 Sep;9:2247. doi:10.3389/fmicb.2018.02247
 13. Ko JK, Auyeung KK. Inflammatory bowel disease: etiology, pathogenesis and current therapy. *Curr Pharm Des.* 2014;20(7):1082-96.
 14. Tkachenko AS. Intestinal epithelial cells necroptosis and its association with intestinal inflammation. *J Clin Med Kaz.* 2019;1(51):12-5. doi:10.23950/1812-2892-JCMK-00658
 15. Negroni A, Cucchiara S, Stronati L. Apoptosis, necrosis, and necroptosis in the gut and intestinal homeostasis. *Mediators Inflamm.* 2015;2015:250762. doi:10.1155/2015/250762
 16. Monteleone M, Stanley AC, Chen KW, Brown DL, Bezbradica JS, von Pein JB, et al. Interleukin-1 β maturation triggers its relocation to the plasma membrane for gasdermin-D-dependent and -independent secretion. *Cell Rep.* 2018 Aug;24(6):1425-33. doi: 10.1016/j.celrep.2018.07.027
 17. Chen Q, Shi P, Wang Y, Zou D, Wu X, Wang D, et al. GSDMB promotes non-canonical pyroptosis by enhancing caspase-4 activity. *J Mol Cell Biol.* 2018 Jun;11(6):496-508. doi: 10.1093/jmcb/mjy056
 18. Denes A, Coutts G, Lénárt N, Cruickshank SM, Pelegrin P, Skinner J, et al. AIM2 and NLRC4 inflammasomes contribute with ASC to acute brain injury independently of NLRP3. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2015 Mar;112(13):4050-5. doi: 10.1073/pnas.1419090112
 19. Guo H, Callaway JB, Ting JP. Inflammasomes: mechanism of action, role in disease, and therapeutics. *Nat Med.* 2015 Jul;21(7):677-87. doi:10.1038/nm.3893
 20. Malik A, Kanneganti TD. Inflammasome activation and assembly at a glance. *J Cell Sci.* 2017 Dec;130(23):3955-63. doi:10.1242/jcs.207365
 21. Jo EK, Kim JK, Shin DM, Sasakawa C. Molecular mechanisms regulating NLRP3 inflammasome activation. *Cell Mol Immunol.* 2015 Mar;13(2):148-59. doi:10.1038/cmi.2015.95
 22. Sollberger G, Strittmatter GE, Garstkiewicz M, Sand J, Beer HD. Caspase-1: the inflammasome and beyond. *Innate Immun.* 2014 Feb;20(2):115-25. doi: 10.1177/1753425913484374
 23. Man SM, Karki R, Kanneganti TD. Molecular mechanisms and functions of pyroptosis, inflammatory caspases and inflammasomes in infectious diseases. *Immunol Rev.* 2017 May;277(1):61-75. doi:10.1111/imr.12534
 24. Shi J, Zhao Y, Wang K, Shi X, Wang Y, Huang H, et al. Cleavage of GSDMD by inflammatory caspases determines pyroptotic cell death. *Nature.* 2015 Oct;526(7575):660-5. doi: 10.1038/nature15514
 25. Hurlley SM. Apoptosis, necrosis, and pyroptosis. *Science.* 2016 Apr;352(6281):48-50. doi: 10.1126/science.1252814.48-j
 26. Fink SL, Cookson BT. Apoptosis, pyroptosis, and necrosis: mechanistic description of dead and dying eukaryotic cells. *Infect Immun.* 2005 Apr;73(4):1907-16. doi:10.1128/IAI.73.4.1907-1916.2005
 27. Taabazuing CY, Okondo MC, Bachovchin DA. Pyroptosis and apoptosis pathways engage in bidirectional crosstalk in monocytes and macrophages. *Cell Chem Biol.* 2017 Apr;24(4):507-14. doi:10.1016/j.chembiol.2017.03.009
 28. Conos SA, Chen KW, De Nardo D, Hara H, Whitehead L, Núñez G, et al. Active MLKL triggers the NLRP3 inflammasome in a cell-intrinsic manner. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2017 Feb;114(6):E961-E969. doi: 10.1073/pnas.1613305114
 29. Blander JM. Death in the intestinal epithelium – Basic biology and implications for inflammatory bowel disease. *FEBS J.* 2016 Jul;283(14):2720-30. doi:10.1111/febs.13771
 30. Horvay K, Abud HE. Regulation of intestinal stem cells by Wnt and Notch signalling. *Adv Exp Med Biol.* 2013;786:175-86. doi: 10.1007/978-94-007-6621-1_10
 31. Rauch I, Deets KA, Ji DX, von Moltke J, Tentorey JL, Lee AY, et al. *Immunity.* 2017 Apr;46(4):649-59. doi: 10.1016/j.immuni.2017.03.016
 32. Sellin ME, Müller AA, Felmy B, Dolowschiak T, Diard M, Tardivel A, et al. Epithelium-intrinsic NAIP/NLRC4 inflammasome drives infected enterocyte expulsion to restrict salmonella replication in the intestinal mucosa. *Cell Host Microbe.* 2014 Aug;16(2):237-48. doi: 10.1016/j.chom.2014.07.001
 33. Knodler LA, Crowley SM, Sham HP, Yang H, Wrangle M, Ma C, et al. Noncanonical inflammasome activation of caspase-4/caspase-11 mediates epithelial defenses against enteric bacterial pathogens. *Cell Host Microbe.* 2014 Aug; 16(2):249-56. doi: 10.1016/j.chom.2014.07.002
 34. Lei-Leston AC, Murphy AG, Maloy KJ. Epithelial cell inflammasomes in intestinal immunity and inflammation. *Front Immunol.* 2017 Sep;8:1168. doi:10.3389/fimmu.2017.01168
 35. Progzatky F, Sangha NJ, Yoshida N, McBrien M, Cheung J, Shia A, et al. Dietary cholesterol directly induces acute inflammasome-dependent intestinal inflammation. *Nat Commun.* 2014 Dec;5:5864. doi: 10.1038/ncomms5864
 36. Zhao Y, Shao F. The NAIP-NLRC4 inflammasome in innate immune detection of bacterial flagellin and type III secretion apparatus. *Immunol Rev.* 2015 May;265(1):85-102. doi: 10.1111/imr.12293
 37. Wlodarska M, Thaiss CA, Nowarski R, Henao-Mejia J, Zhang JP, Brown EM, et al. NLRP6 inflammasome orchestrates the colonic host-microbial interface by regulating goblet cell mucus secretion. *Cell.* 2014 Feb;156(5):1045-59. doi: 10.1016/j.cell.2014.01.026
 38. Levy M, Thaiss CA, Zeevi D, Dohnalova L, Zilberman-Schapira G, Mahdi JA, et al. Microbiota-modulated metabolites shape the intestinal microenvironment by regulating NLRP6 inflammasome signaling. *Cell.* 2015 Dec;163(6):1428-43. doi: 10.1016/j.cell.2015.10.048
 39. Chelakkot C, Ghim J, Ryu SH. Mechanisms regulating intestinal barrier integrity and its pathological implications.

- Exp. Mol. Med. 2018 Aug;50:103. doi: 10.1038/s12276-018-0126-x
40. Siegmund B. Interleukin-1beta converting enzyme (caspase-1) in intestinal inflammation. *Biochem Pharmacol.* 2002 Jul;64(1):1-8. doi: 10.1016/s0006-2952(02)01064-x
 41. Coccia M, Harrison OJ, Schiering C, Asquith MJ, Becher B, Powrie F, et al. IL-1 β mediates chronic intestinal inflammation by promoting the accumulation of IL-17A secreting innate lymphoid cells and CD4(+) Th17 cells. *J Exp Med.* 2012 Aug;209(9):1595-609. doi: 10.1084/jem.20111453
 42. Davis EM, Zhang D, Glover SC, Stappenbeck T, Wang S, Liu JJ. P128 inhibition of intestinal epithelial cell pyroptosis and associated mucosal barrier defects is a potential therapeutic mechanism of action for mesalamine in IBD. *Gastroenterol.* 2019 Feb;156(3):S88. doi: 10.1053/j.gastro.2019.01.204
 43. Xiong Y, Lou Y, Su H, Fu Y, Kong J. Cholecalciferol cholesterol emulsion ameliorates experimental colitis via down-regulating the pyroptosis signaling pathway. *Exp Mol Pathol.* 2016 Jun;100(3):386-92. doi: 10.1016/j.yexmp.2016.03.003
 44. Liu L, Dong Y, Ye M, Jin S, Yang J, Joosse ME, et al. The pathogenic role of NLRP3 inflammasome activation in inflammatory bowel diseases of both mice and humans. *J Crohns Colitis.* 2017 Jun;11(6):737-50. doi: 10.1093/ecco-jcc/jjw219
 45. Monteleone G, Trapasso F, Parrello T, Biancone L, Stella A, Iuliano R, et al. Bioactive IL-18 expression is up-regulated in Crohn's disease. *J Immunol.* 1999 Jul;163(1):143-7.
 46. Nowarski R, Jackson R, Gagliani N, de Zoete MR, Palm NW, Bailis W, et al. Epithelial IL-18 equilibrium controls barrier function in colitis. *Cell.* 2015 Dec; 163(6):1444-56. doi: 10.1016/j.cell.2015.10.072
 47. Seregin SS, Golovchenko N, Schaf B, Chen J, Eaton KA, Chen GY. NLRP6 function in inflammatory monocytes reduces susceptibility to chemically induced intestinal injury. *Mucosal Immunol.* 2017 Mar;10(2):434-45. doi: 10.1038/mi.2016.55
 48. Itani S, Watanabe T, Nadatani Y, Sugimura N, Shimada S, Takeda S, et al. NLRP3 inflammasome has a protective effect against oxazolone-induced colitis: a possible role in ulcerative colitis. *Sci Rep.* 2016 Dec;6:39075. doi: 10.1038/srep39075
 49. Zhen Y, Zhang H. NLRP3 Inflammasome and inflammatory bowel disease. *Front Immunol.* 2019;10:276. doi:10.3389/fimmu.2019.00276
 50. Man SM. Inflammasomes in the gastrointestinal tract: infection, cancer and gut microbiota homeostasis. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* 2018 Dec;15(12):721-37. doi: 10.1038/s41575-018-0054-1
 51. Alipour M, Lou Y, Zimmerman D, Bording-Jorgensen MW, Sergi C, Liu JJ, et al. A balanced IL-1beta activity is required for host response to *Citrobacter rodentium* infection. *PLoS ONE.* 2013 Dec;8(12):e80656. doi:10.1371/journal.pone.0080656
 52. Hasegawa M, Kamada N, Jiao Y, Liu MZ, Nunez G, Inohara N. Protective role of commensals against *Clostridium difficile* infection via an IL-1beta-mediated positive-feedback loop. *J Immunol.* 2012 Sep;189(6):3085-91. doi:10.4049/jimmunol.1200821
 53. Bauer C, Duewell P, Lehr HA, Endres S, Schnurr M. Protective and aggravating effects of NLRP3 inflammasome activation in IBD models: influence of genetic and environmental factors. *Digest Dis.* 2012;30 Suppl 1:82-90. doi:10.1159/000341681
 54. Mao L, Kitani A, Strober W, Fuss IJ. The role of NLRP3 and IL-1 β in the pathogenesis of inflammatory bowel disease. *Front Immunol.* 2018 Nov;9:2566. doi:10.3389/fimmu.2018.02566
 55. Zaki MH, Boyd KL, Vogel P, Kastan MB, Lamkanfi M, Kanneganti TD. The NLRP3 inflammasome protects against loss of epithelial integrity and mortality during experimental colitis. *Immunity.* 2010 Mar;32(3):379-91. doi:10.1016/j.immuni.2010.03.003
 56. Allen IC, TeKippe EM, Woodford RM, Uronis JM, Holl EK, Rogers AB, et al. The NLRP3 inflammasome functions as a negative regulator of tumorigenesis during colitis-associated cancer. *J Exp Med.* 2010 May;207(5):1045-56. doi: 10.1084/jem.20100050
 57. Liu L, Li X. NLRP3 inflammasome in inflammatory bowel disease: friend or foe? *Dig Dis Sci.* 2017 Sep;62(9):2211-14. doi: 10.1007/s10620-017-4650-7
 58. Perera AP, Fernando R, Shinde T, Gundamaraju R, Southam B, Sohal SS, et al. MCC950, a specific small molecule inhibitor of NLRP3 inflammasome attenuates colonic inflammation in spontaneous colitis mice. *Sci Rep.* 2018 Jun;8:8618. doi: 10.1038/s41598-018-26775-w

Submitted 10.06.2019

Accepted 25.07.2019

Сведения об авторах:

Ткаченко А.С. – к.м.н., доцент кафедры биологической химии, Харьковский национальный медицинский университет,

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1029-1636>.

Information about authors:

Tkachenko A.S. – Candidate of Medical Sciences, associate professor of the Chair of Biochemistry, Kharkiv National Medical University,

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1029-1636>.

Адрес для корреспонденции: Украина, 61022, г. Харьков, пр. Науки, 4, Харьковский национальный медицинский университет, кафедра биохимии. E-mail: antontkachenko555@gmail.com – Ткаченко Антон Сергеевич.

Correspondence address: Ukraine, 61022, Kharkiv, 4 Nauky ave., Kharkiv National Medical University, Chair of Biochemistry. E-mail: antontkachenko555@gmail.com – Anton S. Tkachenko.

АНТИМИКРОБНАЯ АКТИВНОСТЬ ЛИЗОЦИМА КАК ФАКТОР НЕСПЕЦИФИЧЕСКОЙ РЕЗИСТЕНТНОСТИ

ГОНЧАРОВА А.И., ОКУЛИЧ В.К., ЗЕМКО В.Ю., СЕНЬКОВИЧ С.А.

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

Вестник ВГМУ. – 2019. – Том 18, №4. – С. 40-45.

ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF LYSOZYME AS A NONSPECIFIC RESISTANCE FACTOR

GONCHAROVA A.I., OKULICH V.K., ZIAMKO V.Y., SENKOVICH S.A.

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

Vestnik VGMU. 2019;18(4):40-45.

Резюме.

Цель – изучить современную этиологическую структуру сиаладенитов с учетом ПЦР-диагностики, установить роль лизоцима в развитии воспалительных заболеваний больших слюнных желез.

Материалы и методы. Обследованы 86 пациентов с сиаладенитами. Пациенты находились на стационарном лечении в УЗ «Витебская областная клиническая больница». Параллельно с бактериологическим методом исследования проводили мультиплексную ПЦР-диагностику в режиме реального времени. Для обнаружения ДНК использовали набор реагентов «Септоскрин» («Литех», Россия). Результат оценивали в программе Bio Rad CFX Manager 3.0.

Результаты. При проведении бактериологического исследования у 67 (77,9%) пациентов с сиаладенитами выделено 70 изолятов, отрицательные результаты посевов получены в 19 случаях (22,1%). Изучена современная этиологическая структура сиаладенитов с учетом мультиплексной ПЦР-диагностики. Мультиплексная ПЦР-диагностика в сравнении с бактериологическим методом является более чувствительной на 16,6%. В эксперименте установлена антимикробная активность лизоцима против стандартных штаммов и изолятов, выделенных от пациентов с воспалительными заболеваниями больших слюнных желез.

Заключение. Изучена современная этиологическая структура сиаладенитов с учетом ПЦР-диагностики, установлена роль лизоцима в развитии воспалительных заболеваний больших слюнных желез.

Ключевые слова: сиаладенит, воспалительное заболевание больших слюнных желез, ПЦР-диагностика, лизоцим.

Abstract.

Objectives. To study the modern etiological structure of sialadenitis with PCR diagnosis taken into account; to establish the role of lysozyme in the development of inflammatory diseases of the large salivary glands.

Material and methods. 86 patients with sialadenitis were examined. These patients underwent inpatient treatment in the Vitebsk Regional Clinical Hospital. In parallel with the bacteriological method of the study, multiplex PCR diagnosis was performed in real time. To detect DNA a set of reagents «Septoscreen» («Litech», Russia) was used. The result was evaluated by means of the program Bio Rad CFX Manager 3.0.

Results. During bacteriological studies, 70 isolates were isolated in 67 (77.9%) patients with sialadenitis, and inoculation negative results were obtained in 19 cases (22.1%). The modern etiological structure of sialadenitis was studied taking into consideration multiplex PCR diagnosis. Multiplex PCR diagnosis in comparison with the bacteriological method is by 16.6% more sensitive. During the experiment the antimicrobial activity of lysozyme against standard strains and isolates isolated from patients with inflammatory diseases of the large salivary glands was determined.

Conclusions. The modern etiological structure of sialadenitis has been studied with PCR diagnosis taken into account, the role of lysozyme in the development of inflammatory diseases of the large salivary glands has been established.

Key words: sialadenitis, inflammatory disease of the large salivary glands, PCR diagnosis, lysozyme.

В последние десятилетия не наблюдается тенденции сокращения частоты встречаемости поражений слюнных желез в общей структуре патологических процессов челюстно-лицевой области. По данным ряда авторов наиболее часто выделяли изоляты *S.epidermidis*, *S.aureus*, *E.coli* и представителей рода *Streptococcus*. Микробная флора у пациентов с сиаладенитами в стадии обострения представляет собой ассоциации различных видов стрептококков аэробов (*Streptococcus sanguis*, *Streptococcus milleri*, *Streptococcus intermedius*, *Enterococcus faecalis*) и анаэробных стрептококков (*Peptostreptococcus spp.*). У пациентов с воспалительными заболеваниями слюнных желез в качестве этиологических агентов выделяют также грамотрицательные бактерии кишечной группы (*Enterobacterium spp.*, *Klebsiella spp.*), а наименее часто – представителей пародонтопатогенной микрофлоры, таких как бактероиды, фузобактерии и актиномицеты [1-3].

ПЦР-диагностика является неотъемлемой частью комплекса диагностических процедур на современном этапе развития клинической и лабораторной диагностики. К преимуществам метода главным образом можно отнести быстроту получения результата при сравнении со стандартным микробиологическим методом. Метод ПЦР-анализа базируется на исследовании генетического материала микроорганизмов, который содержится в биологических жидкостях, полученных от пациентов. Неоспоримым преимуществом метода является также возможность при минимальном количестве материала в кратчайшие сроки получить ответ об этиологической структуре заболевания [4-6].

Мультиплексная ПЦР-диагностика представляет собой реакцию, при которой используется более одной пары праймеров для проведения амплификации нескольких ДНК-овых матриц. Это позволяет одновременно диагностировать целую группу патогенов в режиме реального времени при использовании различных флуоресцентных меток [7].

Условно-патогенные микроорганизмы могут вызывать инфекционный процесс в макроорганизме с нормальной иммунной системой только в случае большой инфицирующей дозы на единицу защитного фактора. Поэтому инфекции, вызываемые условно-патогенными микроорганизмами, возникают обычно у лиц с иммунодефицитами или на фоне другого

неинфекционного заболевания, которое сопровождается нарушением целостности кожных покровов и слизистых оболочек, изменением функции органов и систем [8].

Лизоцим находится во всех биологических жидкостях организма и представляет собой один из наиболее важных факторов неспецифической резистентности макроорганизма. Оценка содержания данного фермента позволяет определить активность системы фагоцитов. Концентрация лизоцима в сыворотке крови растет при острых и хронических миело- и моноцитарных лейкозах, нейтрофильном лейкоцитозе, туберкулезе, саркоидозе, острой бактериальной инфекции и значительно снижается при хронических бактериальных инфекциях, сепсисе, перитоните, гипоплазии костного мозга. Лизоцим обеспечивает защиту слизистой ротовой полости от патогенов, разрушая пептидогликан бактериальной стенки. Главными продуцентами лизоцима в макроорганизме являются околоушные и поднижнечелюстные слюнные железы. Содержание фермента в секрете подчелюстных желез выше, чем в околоушных. Лизоцима находится в большем количестве в смешанной слюне, чем в сыворотке крови. Оценка лизоцимной активности ротовой жидкости позволяет определить функциональное состояние слюнных желез и защитные свойства слюны при инфекционных заболеваниях полости рта [9-13].

Цель исследования – изучить современную этиологическую структуру сиаладенитов с учетом ПЦР-диагностики, установить роль лизоцима в развитии воспалительных заболеваний больших слюнных желез.

Материал и методы

В исследование было включено 86 пациентов с сиаладенитами. Пациенты находились на стационарном лечении в стоматологическом отделении УЗ «Витебская областная клиническая больница». Средний возраст пациентов с воспалительными заболеваниями больших слюнных желез составил $47,25 \pm 14,78$ года, в демографической структуре преобладали мужчины, составившие 55%, женщины – 45%. Продолжительность лечения в отделении была от 3 до 13 дней, в среднем $6,46 \pm 2,46$ дня.

Перед проведением лечения в день поступления в стоматологическом отделении перед проведением антибактериальной терапии осу-

ществляли забор слюны из выводного протока большой слюнной железы в зависимости от локализации воспаления на транспортную питательную среду, в случае проведения хирургического вмешательства проводили интраоперационный забор материала с целью последующего выделения и идентификации микроорганизмов [14].

Выделение микроорганизмов. Идентификацию чистой бактериальной культуры проводили согласно инструкции по применению № 075-0210 «Микробиологические методы исследования биологического материала», утвержденной Министерством здравоохранения Республики Беларусь 13.03.2010 г.

Параллельно с бактериологическим методом исследования на 12 образцах проводили мультиплексную real-time ПЦР-диагностику. Идентификацию генетического материала *Streptococcus spp.*, *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, *Enterobacter spp.*, *Enterococcus faecium*, *Klebsiella spp.*, *Proteus spp.*, *Staphylococcus aureus*, *Serratia spp.*, *Pseudomonas aeruginosa* проводили с использованием набора реагентов «Септо-скрин» («Литех», Россия). Оценку результатов осуществляли в программе Bio Rad CFX Manager 3.0. При случайной контаминации пробы концентрация генетического материала возбудителя была минимальна и находилась у нижней границы чувствительности метода.

Изучение антимикробной активности лизоцима против стандартных штаммов и изолятов, выделенных из протоковой слюны пациентов с сиаладенитами. Предварительно выделяли чистую культуру. Выделенный штамм пересекали на агар и выращивали при 37°C в течение суток. При помощи бактериальной петли в асептических условиях готовили взвесь микроорганизмов на бульоне Мюллера-Хинтона. Оптическая плотность приготовленной бактериальной взвеси при измерении на денситометре соответствовала 0,5 единицы по стандарту мутности МакФарланда, что равняется $1,5 \times 10^8$ КОЕ/мл. В планшет, начиная со второй лунки каждого последующего ряда, вносили по 180 мкл бульона Мюллера-Хинтона. В качестве отрицательно контроля в последних двух лунках каждого ряда был бульон Мюллера-Хинтона в объеме 200 мкл. В первую лунку ряда добавляли 200 мкл взвеси микроорганизмов в концентрации $1,5 \times 10^8$ КОЕ/мл. Из первой лунки ряда переносили во вторую 20 мкл микробной взвеси, из второй в третью и т.д., готовя таким образом десятикратное разведение, исключая кон-

трольные лунки. В нечетный ряд вносили последовательно по 20 мкл лизоцима в известной концентрации, в четный ряд лизоцим не вносили.

Статистическую обработку данных, полученных в ходе проведения исследования, осуществляли с помощью программ Microsoft Excel 2007, Statistica (Version 10, StatSoft Inc., США, лицензия №СТАФ999К347156W). Тип распределения количественных признаков определяли с использованием критерия Шапиро-Уилка. Изучаемые показатели имели параметрическое распределение (p для критерия Шапиро-Уилка во всех группах $>0,05$). Для признаков с нормальным распределением рассчитывали среднюю арифметическую (M) и стандартное отклонение (σ). Различия признавались статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

При проведении бактериологического исследования у 67 (77,9%) пациентов с воспалительными заболеваниями слюнных желез было выделено 70 изолятов, отрицательные результаты посевов получены в 19 случаях (22,1%). Из представленных микроорганизмов наиболее часто встречались изоляты рода *Streptococcus* 32 микроорганизма (45,8%) и представители рода *Staphylococcus* – 23 изолята (32,9%), 5 изолятов (7,1%) – рода *Candida* и 5 изолятов (7,1%) – рода *Actinomyces*, 3 изолята (4,3%) – рода *Gemella* и 2 изолята (2,8%) представители семейства *Enterobacteriaceae* [14].

Параллельно с бактериологическим методом были исследованы микроорганизмы и их ассоциации. В 100% случаев параллельно с бактериологическим методом были идентифицированы методом ПЦР *S. aureus* + *Streptococcus spp.* В двух случаях было подтверждено отсутствие бактериальной флоры методом ПЦР. В то же время в двух образцах, в которых не были выявлены бактериологическим методом микроорганизмы, методом ПЦР были выявлены представители рода *Streptococcus*. Таким образом, на основании представленных данных ПЦР-диагностика в сравнении с бактериологическим методом является более чувствительной на 16,6%.

Для подтверждения роли лизоцима как фактора неспецифической резистентности в защите от инфекционных агентов, выделяемых у пациентов с сиаладенитами, была изучена антимикробная активность лизоцима на стандартных

штаммах *Micrococcus lysodeikticus* ATCC 4698, *S.aureus* ATCC 29213, *S.pneumonia* ATCC 49619 и *S.agalactiae* ATCC 13813, а также изолятах *S.aureus*, *S.epidermidis* и *S.oralis*, *S.mitis*, выделенных из протоковой слюны пациентов с сиаладенитами.

При определении активности лизоцима против исследуемых нами штаммов была использована концентрация лизоцима 600 мг/л, близкая к медианному значению активности лизоцима ротовой жидкости пациентов с сиаладенитами, и 1 мг/мл, соответствующая верхней границе показателя активности лизоцима ротовой жидкости для 87% пациентов с сиаладенитами в день поступления в стационар.

В исследовании было использовано две разновидности лизоцима: выделенный из нейтрофилов человека и лизоцим человека рекомбинантный, поэтому было принято решение сравнить антимикробную активность данных образцов лизоцима против наиболее чувствительного к лизоциму штамма *Micrococcus lysodeikticus* ATCC 4698. При изучении антимикробной активности лизоцима в концентрации 1 мг/мл методом диффузии в агар против штамма *Micrococcus lysodeikticus* ATCC 4698 зона угнетения роста для лизоцима, выделенного из нейтрофилов человека, составила 23 ± 1 мм и 22 ± 1 мм для лизоцима человека рекомбинантного, при этом статистически значимо показатели не отличались ($p > 0,05$).

При использовании метода серийных разведений микроорганизмов лизоцим в концентрации 1 мг/мл подавлял рост *M.lysodeikticus* в концентрации $1,5 \cdot 10^6$ КОЕ/мл, тогда как для *S.aureus*, выделенного из протоковой слюны пациента с сиаладенитом, данный показатель составил только $1,5 \cdot 10^2$ КОЕ/мл. Стандартные штаммы *S.aureus* ATCC 29213, *S.pneumonia* ATCC и *S.agalactiae* ATCC, изоляты *S.aureus*, *S.epidermidis* и *S.oralis*, *S.mitis* в максимальном разведении были устойчивы к действию лизоцима в концентрации 600 мкг/мл. В то же время лизоцим в данной концентрации проявил высокую активность, подавив рост *Micrococcus lysodeikticus* в концентрации $1,5 \cdot 10^4$ КОЕ/мл.

Концентрация лизоцима 1000 мкг/мл, соответствующая верхней границе показателя активности лизоцима ротовой жидкости 87% пациентов с сиаладенитами в день поступления в стационар, эффективна против стандартного штамма *M.lysodeikticus* и изолята *S.aureus*, выделенного из протоковой слюны пациентов. В то же время данная концентрация лизоцима была не-

эффективна против изолятов стрептококков, наиболее часто выделяемых у пациентов с сиаладенитами. Концентрация лизоцима 600 мкг/мл, близкая к медианному значению активности лизоцима ротовой жидкости пациентов с сиаладенитами, эффективна только в отношении *M.lysodeikticus* и не подавляет рост других штаммов и изолятов.

При развитии местного воспалительного процесса в больших слюнных железах наблюдается активное выделение лизоцима моноцитарно-макрофагальными клетками, что приводит к увлечению его содержания в ротовой жидкости, однако концентрация лизоцима недостаточна для угнетения роста микроорганизмов, вызывающих сиаладенит. В данном случае этот неспецифический фактор гуморального иммунитета ротовой полости оказывается неэффективным и приводит к развитию сиаладенитов.

Данный факт определения антимикробной активности лизоцима позволяет установить патогенез воспалительных заболеваний больших слюнных желез, предположить патогенетические механизмы развития сиаладенитов с учетом роли повышения секреции лизоцима в развитии гнойно-воспалительного процесса.

В результате проведенного исследования в эксперименте *in vitro* подтвержден факт роли лизоцима в развитии гнойно-воспалительного процесса больших слюнных желез.

Установлено, что уровень лизоцима, который продуцируется при инфекционном процессе в больших слюнных железах, является недостаточным для подавления роста патогенной микрофлоры, что в большинстве случаев приводит к развитию сиаладенита.

Заключение

1. Использование метода мультиплексной ПЦР-диагностики имеет преимущество по чувствительности относительно бактериологического метода, позволяет уточнить этиологическую структуру сиаладенитов и повысить процент выявленных патогенов с 77,9 до 94,5% случаев.

2. В эксперименте установлена антимикробная активность лизоцима против стандартных штаммов и изолятов, выделенных от пациентов с воспалительными заболеваниями больших слюнных желез, которая не обеспечивает защиту от этиологических агентов заболеваний больших слюнных желез.

Литература

1. Микробиология и иммунология для стоматологов / под ред.: Р. Дж. Ламонта [и др.]; пер. с англ. под ред. В. К. Леонтьева. – М.: Практ. медицина, 2010. – 504 с
2. Микробиология, вирусология и иммунология полости рта : учебник / под ред. В. Н. Царева. – М.: GEOTAR-Media, 2013. – 576 с.
3. Микрофлора полости рта: норма и патология : учеб. пособие / Е. Г. Зеленова [и др.]. – Н. Новгород : НГМА, 2004. – 158 с.
4. Dobson, J. Sensitization of oral bacteria in biofilms to killing by light from a low-power laser / J. Dobson, M. Wilson // Arch. Oral Biol. – 1992 Nov. – Vol. 37, N 11. – P. 883–887.
5. O'Neill, J. F. Oral bacteria in multi-species biofilms can be killed by red light in the presence of toluidine blue / J. F. O'Neill, C. K. Hope, M. Wilson // Lasers Surg. Med. – 2002. – Vol. 31, N 2. – P. 86–90.
6. Quantitative PCR analysis of genes expressed during biofilm development of methicillin resistant Staphylococcus aureus (MRSA) / S. S. Atshan [et al.] // Infect. Genet. Evol. – 2013 Aug. – Vol. 18. – P. 106–112.
7. Лопухов, Л. В. Полимеразная цепная реакция в клинической микробиологической диагностике / Л. В. Лопухов, М. В. Эйдельштейн // Клин. микробиология и анти-

8. микроб. химиотерапия. – 2000. – Т. 2, № 3. – С. 96–106.
8. Косинец, А. Н. Инфекция в хирургии : руководство / А. Н. Косинец, Ю. В. Стручков. – Витебск : ВГМУ, 2004. – 510 с.
9. Immunobiology / C. A. Aneway [et al.]. – 5th ed. – New York : Garland Science, 2001.
10. Назаренко, Г. И. Клиническая оценка результатов лабораторных исследований / Г. И. Назаренко, А. А. Кишкун. – М.: Медицина, 2002. – 541 с.
11. Jacobs, D. S. Laboratory test handbook / D. S. Jacobs, W. R. DeMott, D. K. Oxley. – Hudson, Ohio : Lexi-comp, 2004. – 1342 p.
12. Sanghamitra, N. J. Expanding coordination chemistry from protein to protein assembly / N. J. Sanghamitra, T. Ueno // Chem. Commun. (Camb.). – 2013 May. – Vol. 49, N 39. – P. 4114–4126.
13. Venkataramani, S. Thermal stability of high concentration lysozyme across varying pH: A Fourier Transform Infrared study / S. Venkataramani, J. Truntzer, D. R. Coleman // J. Pharm. Bioallied Sci. – 2013 Apr. – Vol. 5, N 2. – P. 148–153.
14. Гончарова, А. И. Образующие биопленку микроорганизмы и ферменты ротовой жидкости в патогенезе сиаладенитов / А. И. Гончарова // Вестн. ВГМУ. – 2018. – Т. 17, № 3. – С. 58–66.

Поступила 05.04.2019 г.

Принята в печать 25.07.2019 г.

References

1. Lamont RDzh, Lantts MS, Berne RA, Leblank DDzh, Leont'yev VK, red. Microbiology and immunology for dentists. Moscow, RF: Prakt meditsina; 2010. 504 p. (In Russ.)
2. Tsarev VN, red. Microbiology, virology and oral immunology: uchebnik. Moscow, RF: GEOTAR-Media; 2013. 576 p. (In Russ.)
3. Zelenova EG, Zaslavskaya MI, Salina EV, Rassanov SP. Oral microflora: normal and pathological: ucheb posobie. Nizhny Novgorod, RF: NGMA; 2004. 158 p. (In Russ.)
4. Dobson J, Wilson M. Sensitization of oral bacteria in biofilms to killing by light from a low-power laser. Arch Oral Biol. 1992 Nov;37(11):883-7. doi: 10.1016/0003-9969(92)90058-g
5. O'Neill JF, Hope CK, Wilson M. Oral bacteria in multi-species biofilms can be killed by red light in the presence of toluidine blue. Lasers Surg Med. 2002;31(2):86-90. doi: 10.1002/lsm.10087
6. Atshan SS, Shamsudin MN, Karunanidhi A, van Belkum A, Lung LT, Sekawi Z, et al. Quantitative PCR analysis of genes expressed during biofilm development of methicillin resistant Staphylococcus aureus (MRSA). Infect Genet Evol.

- 2013 Aug;18:106-12. doi: 10.1016/j.meegid.2013.05.002
7. Lopukhov LV, Eydel'shteyn MV. Polymerase chain reaction in clinical microbiological diagnosis. Klin Mikrobiolog Antimikrob Khimioterapiia. 2000;2(3):96-106. (In Russ.)
8. Kosinets AN, Struchkov YuV. Infection in surgery: rukovodstvo. Vitebsk, RB: VGMU; 2004. 510 p. (In Russ.)
9. Janeway CA, Travers P, Walport M, Shlomchik MJ. Immunobiology. 5th ed. New York: Garland Science; 2001.
10. Nazarenko GI, Kishkun AA. Clinical evaluation of laboratory results. Moscow, RF: Meditsina; 2002. 541 p. (In Russ.)
11. Jacobs DS, DeMott WR, Oxley DK. Laboratory test handbook. Hudson, Ohio: Lexi-comp; 2004. 1342 p.
12. Sanghamitra NJ, Ueno T. Expanding coordination chemistry from protein to protein assembly. Chem Commun (Camb). 2013 May;49(39):4114-26. doi: 10.1039/c2cc36935d
13. Venkataramani S, Truntzer J, Coleman DR. Thermal stability of high concentration lysozyme across varying pH: A Fourier Transform Infrared study. J Pharm Bioallied Sci. 2013 Apr;5(2):148-53. doi: 10.4103/0975-7406.111821
14. Goncharova AI. Biofilm forming microorganisms and oral fluid enzymes in the pathogenesis of siadenites. Vestn VGMU. 2018;17(3):58-66. (In Russ.)

Submitted 05.04.2019

Accepted 25.07.2019

Сведения об авторах:

Гончарова А.И. – старший преподаватель кафедры клинической микробиологии, Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет;

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

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

Земко В.Ю. – аспирант кафедры анестезиологии и реаниматологии с курсом ФПК и ПК, Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет;

Сенькович С.А. – к.м.н., доцент кафедры клинической микробиологии, Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет.

Information about authors:

Goncharova A.I. – senior lecturer of the Chair of Clinical Microbiology, Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University;

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

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

Ziamko V.Y. – postgraduate of the Chair of Anesthesiology & Critical Care Medicine with the course of the Faculty for Advanced Training & Retraining, Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University;

Senkovich S.A. – Candidate of Medical Sciences, associate professor of the Chair of Clinical Microbiology, 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 клинической микробиологии. E-mail: – anna2569@yandex.ru – Гончарова Анна Игоревна.

Correspondence address: Republic of Belarus, 210009, Vitebsk, 27 Frunze ave., Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University, Chair of Clinical Microbiology. E-mail: – anna2569@yandex.ru – Goncharova Anna Igorevna.

ФЕРМЕНТАТИВНЫЕ АКТИВНОСТИ СЫВОРОТКИ КРОВИ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ И ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНОЙ ДИАГНОСТИКИ ХРОНИЧЕСКИХ ДИФFUЗНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ ПЕЧЕНИ

ПРИЩЕПЕНКО В.А.

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

Вестник ВГМУ. – 2019. – Том 18, №4. – С. 46-59.

BLOOD SERUM ENZYMATIC ACTIVITIES FOR THE DIAGNOSIS AND DIFFERENTIAL DIAGNOSIS OF CHRONIC DIFFUSE LIVER DISEASES

PRYSHCHEPENKA V.A.

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

Vestnik VGMU. 2019;18(4):46-59.

Резюме.

Дифференциальная диагностика хронического гепатита и цирроза печени на ранних стадиях без использования биопсии печени затруднена, в связи с чем остается актуальным поиск неинвазивных маркеров хронических диффузных заболеваний печени. Изменения ферментативных активностей сыворотки крови могут быть использованы в разработке неинвазивных маркеров фиброза и цирроза печени.

Цель исследования – оценить возможность использования ферментативных активностей сыворотки крови в качестве неинвазивных маркеров фиброза и цирроза печени.

Было обследовано 102 пациента с циррозом печени и 41 пациент с хроническим гепатитом. В контрольную группу вошли 43 практически здоровых человека. У пациентов проводилось клинико-лабораторное обследование, определялись индексы цирроза печени, уровни интерлейкина-13, альфа-1-дефензина, гиалуронидазная, трипсиноподобная, дезоксирибонуклеазная и эластазная активности сыворотки крови. У пациентов с хроническим гепатитом было установлено повышение гиалуронидазной, трипсиноподобной, дезоксирибонуклеазной и эластазной активностей сыворотки крови по сравнению с контрольной группой ($p < 0,05$). У пациентов с циррозом печени выявлено повышение гиалуронидазной, дезоксирибонуклеазной и эластазной, а также снижение трипсиноподобной активностей сыворотки крови по сравнению с практически здоровыми лицами ($p < 0,05$). Установлены корреляции изучаемых активностей с клинико-лабораторными показателями, уровнями интерлейкина-13 и альфа-1-дефензина. Определены отсекающие значения активностей, при которых, с высокими чувствительностью и специфичностью, они могут быть использованы для диагностики и дифференциальной диагностики хронических диффузных заболеваний печени.

Ключевые слова: хронический гепатит, цирроз печени, гиалуронидазная активность, трипсиноподобная активность, дезоксирибонуклеазная активность, эластазная активность.

Abstract.

Differential diagnosis of chronic hepatitis and hepatic cirrhosis in the early stages without the use of liver biopsy is difficult, and therefore the search for noninvasive markers of chronic diffuse liver diseases remains relevant. Changes in the enzymatic activities of blood serum can be used in the development of noninvasive markers of liver fibrosis and cirrhosis.

Objectives. To evaluate the possibility of using blood serum enzymatic activities as non-invasive markers of liver fibrosis and cirrhosis.

A total of 41 patients with chronic hepatitis and 102 patients with hepatic cirrhosis were examined. The control group included 43 practically healthy people. Patients underwent clinical and laboratory examinations, liver cirrhosis indices,

levels of interleukin-13, alpha-1-defensin, hyaluronidase, trypsin-like, deoxyribonuclease and elastase blood serum levels were determined. In patients with chronic hepatitis, an increase in serum hyaluronidase, trypsin-like, deoxyribonuclease and elastase activity was found in comparison with the control group ($p < 0.05$). In patients with liver cirrhosis, there was an increase in hyaluronidase, deoxyribonuclease and elastase, as well as a decrease in the trypsin-like activity of blood serum compared with healthy individuals ($p < 0.05$). The correlations of the studied activities with clinical and laboratory parameters, the levels of interleukin-13 and alpha-1-defensin were established. The cut-off values of the activities were determined, at which, with high sensitivity and specificity, they can be used for the diagnosis and differential diagnosis of chronic diffuse liver diseases.

Key words: chronic hepatitis, liver cirrhosis, hyaluronidase activity, trypsin-like activity, deoxyribonuclease activity, elastase activity.

Несмотря на множество методов лабораторной и инструментальной диагностики единственным способом выявления цирроза печени на ранних стадиях остается биопсия печени. Однако ее проведение ограничено рядом противопоказаний, кроме того, выполнение процедуры может сопровождаться различными осложнениями. Последние Клинические протоколы «Диагностика и лечение пациентов с заболеваниями органов пищеварения», как и международные рекомендации, не рекомендуют биопсию печени для рутинного использования [1]. В связи с этим одной из актуальных проблем гепатологии стал поиск неинвазивных дифференциально-диагностических маркеров хронического гепатита и цирроза печени.

Среди методов неинвазивной оценки развития цирроза печени является оценка различных индексов фиброза и цирроза печени, таких как Fib4, Forns, APRI и МДА [2, 3]. Однако данные индексы не всегда позволяют провести оценку наличия цирроза печени с высокой чувствительностью и специфичностью (табл. 1), в связи с чем требуют дальнейшего изучения.

Различные виды ферментативных актив-

ностей соединительной ткани и сыворотки крови играют существенную роль в развитии фиброза и поддержании воспаления у пациентов с хроническими заболеваниями печени. У пациентов с хроническим гепатитом и циррозом печени наблюдаются изменения гиалуронидазной, трипсиноподобной, эластазной и дезоксирибонуклеазной активностей. Важными механизмами действия для предложенных ферментных систем является включение, поддержание активности матриксных металлопротеиназ и факторов иммунного ответа, таких как ФНО- α , TGF- β и других, а также блокирование их тканевых ингибиторов [4, 5].

Изменения ферментативных активностей сыворотки крови могут быть использованы в разработке неинвазивных маркеров фиброза и цирроза печени.

Цель исследования – оценить возможность использования ферментативных активностей сыворотки крови в качестве неинвазивных маркеров фиброза и цирроза печени.

Материал и методы

Исследование проводилось среди паци-

Таблица 1 – Сравнительная характеристика неинвазивных маркеров цирроза печени

Маркер	Значение	AUC	Чувствительность, %	Специфичность, %
APRI	>0,5	0,774 (0,688*)	84,34 (76,8*)	44,78 (54,5*)
	>1,5		43,37(41,46*)	91,04 (87,88*)
	>1		76 (53,6*)	72 (69,7*)
Forns	>6,9		98,0 (97,1*)	90,9 (21,87*)
	>8,71*		76,81*	75*
Fib-4	>3,3	0,764 (0,79*)	77,8 (60,98*)	91,9 (81,82*)
	>1,28*	0,79*	91,5*	54,5*
MDA	<0 (86,76*)	(0,844*)	(0,844*)	(69,23)
Коэффициент де Ритиса	>1*	0,72*	75,81*	59,26*

Примечание: данные представлены по данным литературных источников; * – результаты проведенных нами исследований.

ентов с хроническими заболеваниями печени (хронический гепатит и цирроз печени), находившихся на стационарном лечении в гастроэнтерологическом отделении УЗ «Витебский областной клинический специализированный центр».

Диагноз устанавливался на основании клиническо-лабораторного обследования согласно действующим Клиническим протоколам «Диагностика и лечение пациентов с заболеваниями органов пищеварения» [1]. Вирусная этиология заболевания являлась критерием исключения из данного исследования.

В группу пациентов с хроническим гепатитом был включен 41 пациент. Средний возраст составил $50,5 \pm 11,2$ года. Из них 29 (80,5%) мужчин в возрасте $47,9 \pm 11,0$ лет и 12 (19,5%) женщин в возрасте $54,4 \pm 10,75$ года. В группу пациентов с циррозом печени включено 102 пациента. Средний возраст составил $54,3 \pm 9,1$ года. Из них 61 (59,8%) мужчина в возрасте $54,1 \pm 8,7$ года и 41 (40,2%) женщина в возрасте $55,7 \pm 9,4$ года. В контрольную группу вошли 43 практически здоровых лица – доноров станции переливания крови в возрасте $52,8 \pm 4,2$ года. Из них 25 (58,1%) мужчин в возрасте $52,2 \pm 3,97$ года и 18 (41,9%) женщин в возрасте $53,6 \pm 4,51$ года. Достоверных различий по полу и возрасту в исследуемых группах выявлено не было.

У всех пациентов проводилось клинико-лабораторное обследование. Кроме того, у пациентов основных групп рассчитывались такие неинвазивные маркеры цирроза и фиброза печени, как коэффициент де Ритиса, Fib4, Forns, APRI и МДА (табл. 2).

Определение гиалуронидазной активности выполнялось по методике, основанной на образовании сгустка риванола с гиалуроновой кислотой обратно пропорционально деполимиризации последней под действием гиалуронидазной активности различного происхождения [6].

Определение трипсиноподобной активности сыворотки крови проводилось с использованием модификации метода Эрлангера [7]. Метод основан на расщеплении бензоиларгинин-р-нитроанилида (БАПНА) под действием ферментов сыворотки крови, при этом изменяется цвет и оптическая плотность реакционной смеси.

Определение эластазной активности основано на разрушении эластина в соединении эластин-Конго-красный ферментом эластазой, при этом краситель переходит в раствор, меняя цвет и оптическую плотность среды [8].

Определение дезоксирибонуклеазной активности проводилось по разработанной нами методике [9].

Кроме того, у пациентов и практически здоровых лиц, включенных в исследование, определялись уровни интерлейкина-13 (IL-13) и альфа-1-дефензина (DEFA1) методом твердофазного иммуноферментного анализа.

Результаты обрабатывались с помощью пакетов программ «Statistica» Version 10, StatSoft Inc., США, лицензия №СТАФ999К347156W). ROC-анализ проводился при помощи программы MedCalc. Поскольку изучаемые показатели имели распределение, отличное от нормального (р для критерия Шапиро-Уилка и Лиллиефорса во всех перечисленных группах $< 0,05$), достоверность различий оценивалась с использованием непараметрических методов статистики (критерий Манна-Уитни). Различия считались статистически значимыми при $p < 0,05$. Данные представляли в виде: Медиана (Me) [нижний квартиль (LQ) ÷ верхний квартиль (UQ)]. Наличие корреляции оценивалось методом Спирмена, коэффициент корреляции представлялся в виде r.

С целью оценки возможности использования методик для диагностики хронических заболеваний печени был проведен ROC-анализ полученных данных. При этом были определены

Таблица 2 – Неинвазивные индексы фиброза и цирроза печени у пациентов, включенных в исследование

Показатель	Группа		Достоверность различий, p<
	Хронический гепатит, n=41	Цирроз печени, n=102	
Коэффициент де Ритиса	0,88 [0,57÷1,27]	1,4 [1,09÷1,93]	0,001
Fib4	1,25 [0,82÷2,43]	3,49 [2,04÷5,98]	0,001
Forns	7,78 [6,7÷8,8]	9,94 [8,85÷11,56]	0,001
APRI	0,52 [0,26÷1,18]	1,16 [0,6÷1,79]	0,01
МДА	2,012 [(-)2,83÷6,31]	(-)9,59 [(-)14,09÷(-)4,65]	0,001

Примечание: достоверность различий оценивалась с помощью критерия Манна-Уитни.

точки отсечения уровней активностей, область под ROC-кривой (AUC), чувствительность, специфичность, отношение правдоподобия (LR), предикторное значение (PR) и отношение шансов (OR) методов.

Исследование проведено в соответствии с этическими принципами проведения научных медицинских исследований с участием человека и одобрено Комитетом по этике УО «Витебский государственный медицинский университет».

Результаты и обсуждение

Результаты исследования ферментативных активностей сыворотки крови представлены в таблице 3.

Гиалуронидазная активность

Титр сыворотки крови, в котором определялась гиалуронидазная активность (табл. 3, рис. 1) у пациентов с хроническим гепатитом, составил 1:16000 [1:16000÷1:16000], у пациентов с циррозом печени – 1:16000 [1:12000÷1:16000], что с высокой степенью достоверности выше, чем у практически здоровых лиц (1:4000 [1:4000÷1:4000],

$p < 0,001$). Уровень активности у пациентов групп хронического гепатита и цирроза печени не отличался между собой.

Корреляции гиалуронидазной активности сыворотки крови с клинико-лабораторными показателями пациентов с хроническими диффузными заболеваниями печени представлены в таблице 4. У пациентов с хроническим гепатитом были выявлены сильные корреляции гиалуронидазной активности с активностью аланинаминотрансферазы (АЛТ, $r = -0,75$; $p < 0,05$), альфа-амилазы ($r = -0,77$; $p < 0,05$), уровнем общего ($r = 0,8$; $p < 0,05$) и непрямого билирубина ($r = 0,8$; $p < 0,05$) в сыворотке крови, а также индексом APRI ($r = -0,41$; $p < 0,05$). У пациентов с циррозом печени наблюдались наиболее сильные корреляции гиалуронидазной активности с активностями щелочной фосфатазы (ЩФ, $r = -0,51$; $p < 0,05$) и альфа-амилазы ($r = -0,5$; $p < 0,05$).

Проведение ROC-анализа между группой хронических диффузных заболеваний печени и контрольной группой показало, что при определении гиалуронидазной активности в титре сыворотки крови выше 1:6000 с чувствительностью 88, 11% и специфичностью 100% можно выста-

Таблица 3 – Уровень ферментативных активностей сыворотки крови у пациентов с хроническими диффузными заболеваниями печени

Активность	Группа (n)	Me [LQ÷UQ]	Me [10÷90]	P
Гиалуронидазная, титр сыворотки	1. Контроль (42)	1:4000 [1:4000÷1:4000]	1:4000 [1:4000÷1:6000]	P1-2<0,001 P1-3<0,001 P2-3>0,05
	2. Хронический гепатит (41)	1:16000 [1:16000–1:16000]	1:16000 [1:12000÷1:32000]	
	3. Цирроз печени (102)	1:16000 [1:12000÷1:16000]	1:16000[1:6000÷1:32000]	
БАПНА-амидазная, пкат	1. Контроль (25)	2,28 [2÷2,5]	2,28 [1,56÷3,58]	P1-2<0,001 P1-3<0,01 P2-3<0,001
	2. Хронический гепатит (32)	4,55 [2,83÷5,78]	4,55 [1,63÷8,44]	
	3. Цирроз печени(73)	1,52 [0,5÷2,57]	1,52 [0÷3,82]	
Эластазная, пкат	1. Контроль (43)	0,17 [0,12÷0,25]	0,17 [0,1÷0,28]	P1-2<0,001 P1-3<0,001 P2-3>0,05
	2. Хронический гепатит (34)	1,22 [0,65÷3,34]	1,22[0,54÷6,18]	
	3. Цирроз печени (66)	1,16 [0,82÷2,48]	1,16 [0,39÷4,65]	
ДНКазная, У/мл	1. Контроль (43)	0 [0÷0]	0 [0÷0]	P1-2<0,001 P1-3<0,01 P2-3<0,001
	2. Хронический гепатит (33)	12,53 [0÷25,18]	12,53 [0÷113,8]	
	3. Цирроз печени (72)	0 [0÷0,035]	0 [0÷11,93]	

Примечание: достоверность различий оценивалась с помощью критерия Манна-Уитни.

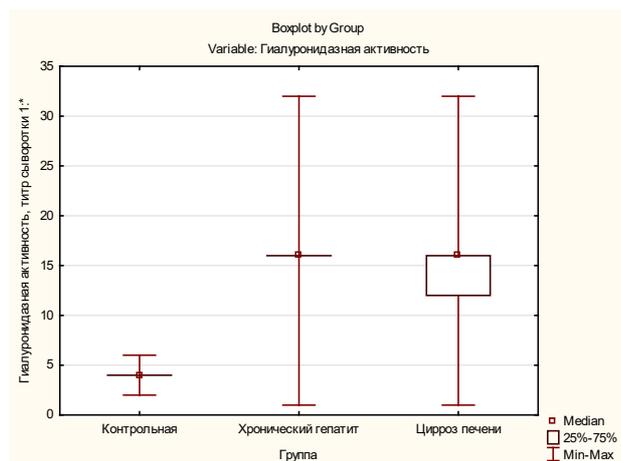


Рисунок 1 – Уровень гиалуронидазной активности сыворотки крови у пациентов с хроническими диффузными заболеваниями печени.

вить заключение в пользу наличия хронического диффузного заболевания печени (AUC=0,931; $p < 0,001$; таблица 5).

Шанс выявить гиалуронидазную активность в титре сыворотки, равном или большем 1:6000 у пациентов с хроническими заболеваниями

ми печени, составил 9,3; шанс обнаружить повышение активности у практически здоровых лиц – 0,273; отношение шансов (OR) составило 34,05 [ДИ95%=13,56÷85,5].

Определение гиалуронидазной активности обладает высокой чувствительностью и специфичностью при диагностике хронических диффузных заболеваний печени. Однако при этом данный метод не позволяет провести дифференциальную диагностику между хроническим гепатитом и циррозом печени. В связи с этим гиалуронидазная активность может быть использована как один из дополнительных неспецифических диагностических маркеров заболеваний печени.

Трипсиноподобная активность

Уровень трипсиноподобной (БАПНА-амидазной) активности сыворотки крови (табл. 3, рис. 2) у пациентов с хроническим гепатитом составил 4,55 [2,83÷5,78] пкат, что достоверно ниже, чем в контрольной группе (2,28 [2÷2,5] пкат, $p < 0,001$). У пациентов с циррозом печени уровень активности (1,52 [0,5÷2,57] пкат) досто-

Таблица 4 – Корреляции гиалуронидазной активности с клинико-лабораторными показателями пациентов с диффузными заболеваниями печени

Показатель	Коэффициент корреляции (r)
Пациенты с хроническими диффузными заболеваниями печени	
АЛТ, Е/л	-0,22
АСТ, Е/л	-0,31
ЩФ, Е/л	-0,31
Сывороточная альфа-амилаза, Е/л	-0,40
ГГТП, Е/л	-0,25
Эластаза, пкат	0,65
Пациенты с хроническим гепатитом	
Белок общий, г/л	-0,41
АЛТ, Е/л	-0,75
АСТ, Е/л	-0,42
Билирубин общий, мкмоль/л	0,8
Билирубин не прямой, мкмоль/л	0,8
Сывороточная альфа-амилаза, Е/л	-0,77
ИЛ-13, пг/мл	0,49
Альфа-1-дефензин, пг/мл	0,64
APRI	-0,41
Пациенты с циррозом печени	
ЩФ, Е/л	-0,51
Сывороточная альфа-амилаза, Е/л	-0,5
ДНКазы, U/мл	0,31
Эластаза, пкат	0,34

Примечание: достоверность отличий – $p < 0,05$.

Таблица 5 – Результаты ROC-анализа гиалуронидазной активности в титре сыворотки 1:6000 у пациентов с хроническими диффузными заболеваниями печени

Показатель	Значение [ДИ95%]
AUC	0,931 [ДИ95%=0,884÷0,963]
Чувствительность	88,11 [ДИ95%=81,6÷92,9]
Специфичность	100,00 [ДИ95%=91,6÷100,0]
-LR	0,12 [ДИ95%=0,08÷0,2]
+PV	100,0
-PV	71,2 [ДИ95%=61,3÷79,4]
p	<0,0001

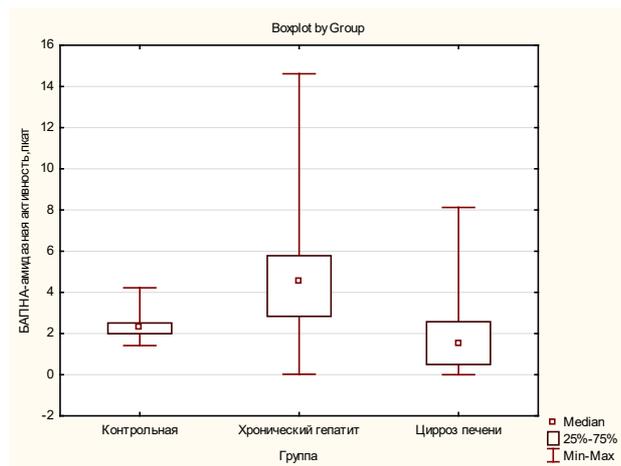


Рисунок 2 – Уровень трипсиноподобной активности сыворотки крови у пациентов с хроническими диффузными заболеваниями печени.

верно ниже, чем в контрольной группе и в группе пациентов с хроническим гепатитом ($p < 0,01$).

У пациентов с хроническими диффузными заболеваниями печени в целом выявлены корреляции (табл. 6) средней силы между уровнем БАПНА-амидазной активности сыворотки крови и уровнями ретикулоцитов в общем анализе крови ($r = -0,53$; $p < 0,05$), скоростью оседания эритроцитов (СОЭ, $r = -0,43$; $p < 0,05$), активностью ЩФ сыворотки крови ($r = -0,54$; $p < 0,05$), активированным частичным тромбопластиновым временем (АЧТВ, $r = -0,41$; $p < 0,05$). Выявлены зависимости уровня активности и классом тяжести, а также баллами по Чайлд-Пью ($r = -0,42$ и $-0,44$; $p < 0,05$), с наличием портальной гипертензии ($r = -0,42$; $p < 0,05$). Среди индексов цирроза и фиброза печени выявлены слабые зависимости с баллами по МДА и Forns ($r = 0,34$ и $-0,29$ соответственно; $p < 0,05$).

У пациентов с хроническим гепатитом (табл. 6) выявлена сильная корреляция БАПНА-амидазной активности с активностью ЩФ сыворотки крови ($r = -0,76$; $p < 0,05$). Кроме того, вы-

явлены корреляции средней силы с количеством эритроцитов в общем анализе крови ($r = 0,41$; $p < 0,05$), СОЭ ($r = -0,41$; $p < 0,05$), а также активностью аспаргатаминотрансферазы (АСТ, $r = -0,41$; $p < 0,05$) и гаммаглутамилтранспептидазы (ГГТП, $r = -0,61$; $p < 0,05$) в сыворотке крови. Среди клинических данных выявлена зависимость между уровнем трипсиноподобной активности сыворотки крови и наличием спленомегалии ($r = -0,61$; $p < 0,05$).

У пациентов с циррозом печени выявлены корреляции (табл. 6) средней силы между уровнем БАПНА-амидазной активности и уровнем ретикулоцитов в общем анализе крови ($r = -0,54$; $p < 0,05$), а также ЩФ ($r = -0,4$; $p < 0,05$).

При проведении ROC-анализа между группой пациентов с хроническим гепатитом и контрольной группой (табл. 7) установлено, что при значении уровня БАПНА-амидазной активности выше 3,68 пкат с чувствительностью 65,62% [ДИ95%=46,8÷81,4] и специфичностью 96% [ДИ95%=79,6÷99,9] можно выставить заключение в пользу хронического гепатита (AUC =0,799 [ДИ95%=0,672÷0,893]; $p < 0,001$).

Шанс выявить повышение трипсиноподобной активности выше 3,68 пкат у пациентов с хроническим гепатитом составил 1,91; шанс обнаружить повышение активности у практически здоровых лиц – 0,042; отношение шансов (OR) составило 45,8 [ДИ95%=5,45÷385,3].

При проведении ROC-анализа между группой пациентов с циррозом печени и контрольной группой установлено (табл. 8), что при снижении трипсиноподобной активности сыворотки крови ниже 1,74 пкат с чувствительностью 58,9% [ДИ95%=46,8÷70,3] и специфичностью 88% [ДИ95%=68,8÷97,5] можно выставить заключение в пользу цирроза печени (AUC =0,694 [ДИ95%=0,592 ÷0,783]; $p < 0,001$).

Шанс выявить снижение трипсиноподобной активности ниже 1,74 пкат у пациентов с

Таблица 6 – Корреляции трипсиноподобной активности с клинико-лабораторными показателями пациентов с диффузными заболеваниями печени

Показатель	Коэффициент корреляции (r)
Пациенты с хроническими диффузными заболеваниями печени	
Эритроциты, *10 ¹² /л	0,29
Ретикулоциты, %	-0,53
Палочкоядерные нейтрофилы, %	-0,25
Лимфоциты, *10 ⁹ /л	0,27
СОЭ, мм/ч	-0,43
Билирубин общий, мкмоль/л	-0,25
Билирубин непрямой, мкмоль/л	-0,27
ЩФ, Е/л	-0,54
Холестерин, ммоль/л	0,24
ПТИ	0,35
АЧТВ, сек	-0,41
ДНКЗа, У/мл	0,33
Класс тяжести по Чайлд-Пью	-0,42
Баллы по Чайлд-Пью	-0,44
МДА	0,34
Forns	-0,29
Портальная гипертензия	-0,52
Степень асцита	-0,37
Степень ВРВ	-0,22
Гепатомегалия	-0,3
Степень ПСЭ	-0,21
Пациенты с хроническим гепатитом	
Эритроциты, *10 ¹² /л	0,41
СОЭ, мм/ч	-0,41
АСТ, Е/л	-0,41
ЩФ, Е/л	-0,76
ГГТП, Е/л	-0,55
Спленомегалия	-0,61
Пациенты с циррозом печени	
Ретикулоциты, %	-0,54
Белок общий, г/л	-0,29
ЩФ, Е/л	-0,4
ДНКЗа, У/мл	0,28

Примечание: достоверность отличий – $p < 0,05$.

Таблица 7 – Результаты ROC-анализа трипсиноподобной активности у пациентов с хроническим гепатитом при отсекающем значении выше 3,68 пкат

Показатель	Значение [ДИ95%]
AUC	0,799 [ДИ95%=0,672÷0,893]
Чувствительность	65,62% [ДИ95%=46,8÷81,4]
Специфичность	96% [ДИ95%=79,6÷99,9]
+LR	16,41 [ДИ95%=2,4÷113,8]
-LR	0,36 [ДИ95%=0,2÷0,6]
+PV	95,5 [ДИ95%=75,2÷99,3]
-PV	68,6 [ДИ95%=57,3÷78,0]
p	<0,001

Таблица 8 – Результаты ROC-анализа трипсиноподобной активности у пациентов с циррозом печени при отсекающем значении ниже 1,74 пкат

Показатель	Значение [ДИ95%]
AUC	0,694 [ДИ95%=0,592÷0,783]
Чувствительность	58,9% [ДИ95%=46,8÷70,3]
Специфичность	88% [ДИ95%=68,8÷97,5]
+LR	5,91 [ДИ95%=1,7÷14,4]
-LR	0,47 [ДИ95%=0,3÷0,6]
+PV	93,5 [ДИ95%=83,0÷97,7]
-PV	42,3 [ДИ95%=35,0÷50,0]
p	<0,001

Таблица 9 – Результаты ROC-анализа трипсиноподобной активности у пациентов с циррозом печени при отсекающем значении активности ниже 1,79 пкат

Показатель	Значение [ДИ95%]
AUC	0,824 [ДИ95%=0,737 ÷ 0,891]
Чувствительность	63,01% [ДИ95%=50,9÷74,0]
Специфичность	87,5% [ДИ95%=71,0÷96,5]
+LR	5,04 [ДИ95%=2,0÷12,8]
-LR	0,42 [ДИ95%=0,3÷0,6]
+PV	92,0 [ДИ95%=81,9÷96,7]
-PV	50,9 [ДИ95%=42,8÷59,0]
p	<0,001

циррозом печени составил 1,43; шанс обнаружить повышение активности у практически здоровых лиц – 0,14; отношение шансов (OR) составило 10,5 [ДИ95%=2,9÷38,3].

У пациентов с клинической картиной хронического диффузного заболевания печени при проведении дифференциальной диагностики между хроническим гепатитом и циррозом печени при уровне БАПНА-амидазной активности ниже 2,68 пкат с чувствительностью 78,08% [ДИ95%=66,9÷86,9] и специфичностью 78,12% [ДИ95%=60,0÷90,7] можно выставить заключение в пользу цирроза печени, при этом +LR=3,57 [ДИ95%=1,8÷6,9]. Шанс выявить снижение трипсиноподобной активности ниже 2,68 пкат у пациентов с циррозом печени составил 3,56; шанс обнаружить повышение активности у пациентов с хроническим гепатитом – 0,28; отношение шансов (OR) составило 12,7 [ДИ95%=4,66÷34,76].

Для повышения специфичности и положительного LR метода принято отсекающее значение ниже 1,79 пкат (табл. 9). При это значении с чувствительностью 63,01% [ДИ95%=50,9÷74,0] и специфичностью 87,5% [ДИ95%=71,0÷96,5] можно выставить заключение в пользу цирроза печени (AUC=0,824 [ДИ95%=0,737÷0,891]; p<0,001).

Шанс выявить снижение трипсиноподобной активности ниже 1,79 пкат у пациентов с циррозом печени составил 1,7; шанс обнаружить повышение активности у пациентов с хроническим гепатитом – 0,14; отношение шансов (OR) составило 11,9 [ДИ95%=3,8÷37,7].

При отсекающем значении ниже 1,79 пкат увеличивается специфичность, отношение правдоподобия и отношение шансов метода, что позволяет снизить количество ложноположительных диагнозов цирроз печени. Однако при этом отсекающем значении снижается чувствительность метода.

Дезоксирибонуклеазная активность

В ходе исследования было установлено, что сыворотка крови практически здоровых лиц не обладает дезоксирибонуклеазной (ДНКазной) активностью. В то же время уровень активности сыворотки крови пациентов с хроническим гепатитом составил 12,53 [0÷25,18] У/мл, что с высокой степенью достоверности выше (p<0,001), чем у пациентов с циррозом печени (0 [0÷0,035] У/мл) и практически здоровых лиц (табл. 3, рис. 3). При этом дезоксирибонуклеазная активность сыворотки крови пациентов с циррозом печени достоверно выше, чем в контрольной группе (p<0,001).

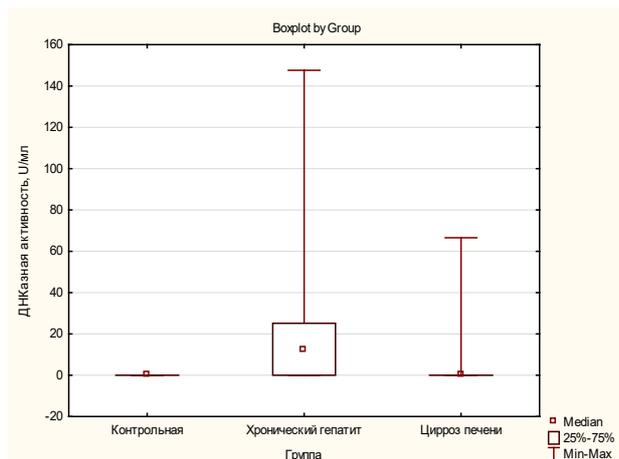


Рисунок 3 – Уровень дезоксирибонуклеазной активности сыворотки крови у пациентов с хроническими диффузными заболеваниями печени.

У пациентов с хроническими диффузными заболеваниями печени выявлены корреляции (табл. 10) средней силы между уровнем дезоксирибонуклеазной активности и коэффициентом де Ритиса ($r=-0,4$; $p<0,05$), активностью ЩФ ($r=-0,4$; $p<0,05$) и уровнем натрия ($r=0,53$; $p<0,05$) в сыворотке крови, а также баллами по Чайлд-Пью ($r=-0,4$; $p<0,05$), наличием портальной гипертензии ($r=-0,52$; $p<0,05$). У пациентов с циррозом печени выявлены корреляции ДНКазной активности с активностью ЩФ ($r=-0,44$; $p<0,05$) и уровнем натрия ($r=0,6$; $p<0,05$) в сыворотке крови.

При выявлении цитолитического синдрома у пациентов с хроническими диффузными заболеваниями печени и проведении дифференциальной диагностики между хроническим

Таблица 10 – Корреляции дезоксирибонуклеазной активности с клинико-лабораторными показателями пациентов с диффузными заболеваниями печени

Показатель	Коэффициент корреляции (r)
Пациенты с хроническими диффузными заболеваниями печени	
Эритроциты, $\cdot 10^{12}/л$	0,25
Палочкоядерные нейтрофилы, %	-0,23
СОЭ, мм/ч	-0,3
Билирубин общий, мкмоль/л	-0,26
Билирубин прямой, мкмоль/л	-0,28
Коэффициент де Ритиса	-0,22
ЩФ, Е/л	-0,4
Натрий, ммоль/л	0,53
ГГТП, Е/л	-0,24
ПТИ	0,31
АЧТВ, сек	-0,31
БАПНА, пкат	0,33
Эластазная активность, пкат	0,2
Класс тяжести по Чайлд-Пью	-0,31
Баллы по Чайлд-Пью	-0,4
МДА	0,24
Forns	-0,24
Портальная гипертензия	-0,52
Степень асцита	-0,24
Степень ВРВ	-0,24
Степень ПСЭ	-0,24
Пациенты с циррозом печени	
Тромбоциты, $\cdot 10^9/л$	-0,31
Мочевина, ммоль/л	0,27
ЩФ, Е/л	-0,44
Натрий, ммоль/л	0,60
БАПНА, пкат	0,28
Эластаза, пкат	-0,34
Гиалуронидаза, титр	0,31
Спленомегалия	0,25

Примечание: достоверность отличий – $p<0,05$.

гепатитом и циррозом печени при отсекающем значении уровня активности дезоксирибонуклеаз $>0,194$ U/мл с чувствительностью 72,73% [ДИ95%=54,5÷86,7] и специфичностью 77,78% [ДИ95%=66,4÷86,7]; (+)LR=3,27 [ДИ95%=1,9÷5,6]; (-) LR=0,35 [ДИ95%=0,3÷0,7]; (+)PV=60,0 [ДИ95%=48,1÷70,8]; (-)PV=86,2 [ДИ95%=77,9÷91,7] можно сделать заключение в пользу хронического гепатита (AUC=0,770 [ДИ95%=0,677÷0,846], $p<0,001$). Шанс выявить повышение уровня активности дезоксирибонуклеаз выше 0,194 U/мл у пациентов с хроническим гепатитом составляет 2,667; у пациентов с циррозом печени – 0,262; отношение шансов (OR) – 10,167 [ДИ95%=3,958÷26,115]. Отношение шансов при отсутствии хронического гепатита и повышении уровня активности дезоксирибонуклеаз – 0,098.

Для повышения специфичности, отношения правдоподобия (+LR) и отношения шансов (OR) метода принято отсекающее значение $>11,93$ U/мл (табл. 11). При значении уровня активности дезоксирибонуклеаз $>11,93$ U/мл с чувствительностью 54,55% [ДИ95%=36,4÷71,9] и специфичностью 90,28% [ДИ95%=81,0÷96,0]; (+)LR=5,61 [ДИ95%=2,6÷12,1]; (-)LR=0,50 [ДИ95%=0,3÷0,7]; (+)PV=72,0 [ДИ95%=54,4÷84,7]; (-)PV=81,2 [ДИ95%=74,7÷86,4] можно сделать заключение в пользу хронического гепатита (AUC=0,770 [ДИ95%=0,677÷0,846], $p<0,001$). Шанс выявить повышение уровня активности дезоксирибонуклеаз выше 11,93 U/мл у пациентов с хроническим гепатитом составляет 1,2; у пациентов с циррозом печени – 0,1; отношение шансов (OR) – 12,0 [ДИ95%=4,259÷33,814]. Отношение шансов при отсутствии хронического гепатита и повышении уровня активности дезоксирибонуклеаз – 0,083. Таким образом, при уровне активности

дезоксирибонуклеаз выше 11,93 U/мл снижается вероятность диагностической ошибки (постановки ложноположительного заключения: цирроз печени).

Эластазная активность

При изучении эластазной активности сыворотки крови было установлено (табл. 3, рис. 4), что уровень активности в контрольной группе (0,17 [0,12÷0,25] пкат) с высокой степенью достоверности ниже, чем у пациентов с хроническим гепатитом (1,22 [0,65÷3,34] пкат, $p<0,001$) и циррозом печени (1,16 [0,82÷2,48], $p<0,001$). Достоверных отличий между группами хронического гепатита и цирроза печени выявлено не было.

У пациентов с хроническими диффузными заболеваниями печени выявлены корреляции (табл. 12) эластазной активности с содержанием сегментоядерных нейтрофильных клеток в общем анализе крови ($r=-0,33$; $p<0,05$) и активностью гиалуронидазы ($r=0,65$; $p<0,05$). У пациентов с хроническим гепатитом уровень активности

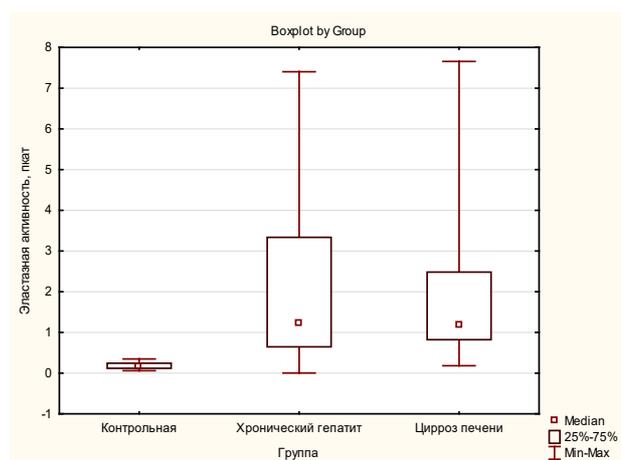


Рисунок 4 – Уровень эластазной активности сыворотки крови у пациентов с хроническими диффузными заболеваниями печени.

Таблица 11 – Результаты ROC-анализа дезоксирибонуклеазной активности у пациентов с циррозом печени при отсекающем значении выше 11,93 U/мл

Показатель	Значение [ДИ95%]
AUC	0,770 [ДИ95%= 0,677 ÷ 0,846]
Чувствительность	54,55% [ДИ95%36,4÷71,9]
Специфичность	90,28% [ДИ95%=81,0÷96,0]
+LR	5,61 [ДИ95%=2,6÷12,1]
-LR	0,50[ДИ95%=0,3÷0,7]
+PV	72,0 [ДИ95%=54,4÷84,7]
-PV	81,2 [ДИ95%=74,7÷86,4]
p	$<0,001$

Таблица 12 – Корреляции эластазной активности с клинико-лабораторными показателями пациентов с диффузными заболеваниями печени

Показатель	Коэффициент корреляции (r)
Пациенты с хроническими диффузными заболеваниями печени	
Лейкоциты, *10 ⁹ /л	0,23
Сегментоядерные нейтрофилы, %	0,33
Лимфоциты, %	-0,24
Моноциты, %	-0,27
Гиалуронидаза, титр	0,65
Пациенты с хроническим гепатитом	
ЩФ, Е/л	-0,4
Пациенты с циррозом печени	
Сегментоядерные нейтрофилы, %	0,4
Моноциты, %	-0,32
Степень ВРВ пищевода	0,30
ДНКазы, У/мл	-0,34
Гиалуронидаза, титр	-0,34

Примечание: достоверность отличий – $p < 0,05$.

нейтрофильной эластазы коррелировал с активностью ЩФ сыворотки крови ($r = -0,4$; $p < 0,05$). У пациентов с циррозом печени выявлены слабые корреляции эластазной активности с содержанием сегментоядерных нейтрофильных клеток ($r = 0,4$; $p < 0,05$), моноцитов ($r = -0,32$; $p < 0,05$) в общем анализе крови, а также степенью варикозно-го расширения вен пищевода ($r = 0,3$; $p < 0,05$).

При проведении ROC-анализа между пациентами с хроническими диффузными заболеваниями печени и контрольной группой было установлено, что при уровне эластазной активности выше 0,35 кпат (табл. 13) с чувствительностью 92,0% [ДИ95%=84,8÷96,5] и специфичностью 100% [ДИ95%=91,8÷100] можно выставить заключение в пользу наличия хронического диффузного заболевания печени (AUC = 0,976 [ДИ95%=0,935÷0,994]; $p < 0,001$). Шанс выявить повышение уровня активности нейтрофильной эластазы выше 0,35 кпат у пациентов с хроническими диффузными заболеваниями пе-

чени составляет 11,5; у практически здоровых лиц – 0,024; отношение шансов (OR) – 483,0 [ДИ95%=58,5÷3986,7]. Отношение шансов при отсутствии хронического диффузного заболевания печени и повышении уровня активности эластазы – 0,002.

Определение эластазной активности обладает высокой чувствительностью и специфичностью при диагностике хронических диффузных заболеваний печени. Однако при этом данный метод не позволяет провести дифференциальную диагностику между хроническим гепатитом и циррозом печени. В связи с этим эластазная активность может быть использована как один из дополнительных неспецифических диагностических маркеров заболеваний печени.

У пациентов с хроническими заболеваниями печени наблюдаются корреляции между исследуемыми активностями. Так, имеются зависимости между уровнями гиалуронидазной и эластазной ($r = 0,65$; $p < 0,05$), трипсиноподобной

Таблица 13 – Результаты ROC-анализа эластазной активности у пациентов с хроническими диффузными заболеваниями печени

Показатель	Значение [ДИ95%]
AUC	0,976 [ДИ95%=0,935 ÷ 0,994]
Чувствительность	92,0% [ДИ95%=84,8 ÷ 96,5]
Специфичность	100% [ДИ95%=91,8 ÷ 100]
-LR	0,08 [ДИ95%=0,04 ÷ 0,2]
+PV	100
-PV	84,3 [ДИ95%=73,4 ÷ 91,3]
p	<0,001

и дезоксирибонуклеазной ($r=0,33$; $p<0,05$), дезоксирибонуклеазной и эластазной ($r=0,2$; $p<0,05$) активностями. В группе цирроза печени имеются корреляции между гиалуронидазной и эластазной ($r=0,34$; $p<0,05$), трипсиноподобной и дезоксирибонуклеазной ($r=0,28$; $p<0,05$), дезоксирибонуклеазной и эластазной ($r=-0,34$; $p<0,05$), а также дезоксирибонуклеазной и гиалуронидазной ($r=0,31$; $p<0,05$) активностями сыворотки крови.

Таким образом, у пациентов с хроническими диффузными заболеваниями печени наблюдаются изменения гиалуронидазной, трипсиноподобной, эластазной и дезоксирибонуклеазной активностей сыворотки крови по сравнению с практически здоровыми лицами. Изменения трипсиноподобной и эластазной активностей отражают вовлечение факторов неспецифической резистентности организма в патогенез хронических диффузных заболеваний печени. Снижение активности трипсиноподобных соединений у пациентов с циррозом печени является проявлением печеночно-клеточной недостаточности. Гиалуронидазная и дезоксирибонуклеазная активности указывают на процесс фиброгенеза и цитолиза. Установленные корреляции изучаемых активностей подтверждают это.

Гиалуронидазная и эластазная активности сыворотки крови значительно повышаются как у пациентов с хроническим гепатитом, так и у пациентов с циррозом печени, при этом достоверно не различаясь в двух группах. Данные активности, обладая высокой чувствительностью и специфичностью (88% и 100% соответственно для гиалуронидазной активности, 92% и 100% соответственно для эластазной активности), могут быть использованы в качестве маркеров наличия диффузного заболевания печени. Однако, отсутствие различий между хроническим гепатитом и циррозом печени не позволяет использовать данные виды ферментативных активностей для дифференциальной диагностики этих заболеваний.

Трипсиноподобная и дезоксирибонуклеазная активности сыворотки крови обладают достоверными отличиями в исследуемых группах как по сравнению с практически здоровыми лицами, так и при сравнении между группами. Чувствительность и специфичность трипсиноподобной активности при дифференциальной диагностике хронического гепатита и цирроза печени составили (в зависимости от отсекающего значения) от 63% до 78% и от 78% до 87,5% соответственно. Для ДНКазной активности эти показатели со-

ставили от 54,5% до 72,7% и от 77,8% до 90,2% соответственно. Таким образом, данные показатели обладают достаточно высокими чувствительностью и специфичностью, сопоставимыми с другими неинвазивными маркерами фиброза и цирроза печени, такими как APRI (53,6% и 69,7% соответственно), Forns (76,8% и 75% соответственно), Fib4 (60,98% и 81,82% соответственно) и МДА (86,76% и 69,23% соответственно).

Заключение

1. Установлены значимые изменения ферментативных активностей сыворотки крови у пациентов с хроническими диффузными заболеваниями печени по сравнению с практически здоровыми лицами: при хроническом гепатите и циррозе печени класса тяжести А, В и С по Чайлд-Пью наблюдаются достоверно повышенные уровни гиалуронидазной (в среднем в 4 раза), эластазной (в среднем в 7 раз) и дезоксирибонуклеазной сывороточных активностей. Уровень трипсиноподобной активности сыворотки крови достоверно повышен у пациентов с хроническим гепатитом (в среднем в 2 раза), в то время как у пациентов с циррозом печени наблюдаются сниженные уровни активности (в среднем в 1,5 раза).

2. Разработаны методы диагностики хронических диффузных заболеваний печени по изменению уровней ферментативных активностей сыворотки крови и показателей системы иммунитета. Наличие хронического диффузного заболевания печени может быть подтверждено с высоким отношением шансов по сравнению с практически здоровыми лицами при наличии соответствующей клинической картины и повышении следующих сывороточных активностей выше определенного уровня: гиалуронидазной, отношение шансов составило 34,05; и эластазной – 483,0, а также высоком уровне альфа-1-дефензина – 15,9. Разработаны методы дифференциальной диагностики между хроническим гепатитом и циррозом печени при соответствующем уровне дезоксирибонуклеазной и трипсиноподобной активностей сыворотки крови с отношением шансов 12,0 и 11,9 соответственно.

3. Разработанные методы дифференциальной диагностики хронического гепатита и цирроза печени обладают чувствительностью и специфичностью (78,1% и 78,1% соответственно для трипсиноподобной; 72,7% и 77,8% соответственно для дезоксирибонуклеазной активности

сыворотки крови), превышающими аналогичные показатели индекса де Ритиса (75,8% и 59,26% соответственно) и сопоставимыми с APRI (53,6% и 69,7% соответственно), Forns (76,8% и 75% соответственно), Fib4 (60,98% и 81,82% соответственно) и МДА (86,76% и 69,23% соответственно).

Исследование выполнено при поддержке Белорусского Республиканского Фонда фундаментальных исследований.

The study was supported by the Belarusian Republican Foundation for Fundamental Research.

Литература

1. Диагностика и лечение пациентов с заболеваниями органов пищеварения : клинический протокол : постановление М-ва здравоохранения Респ. Беларусь, 21 авг. 2016 г., № 90 / М-во здравоохранения Респ. Беларусь // Гепатология и гастроэнтерология. – 2017. – Т. 1, № 1. – С. 99–117.
2. Performance of the aspartate aminotransferase-to-platelet ratio index for the staging of hepatitis C-related fibrosis: an updated meta-analysis / Z. H. Lin [et al.] // Hepatology. – 2011 Mar. – Vol. 53, N 3. – P. 726–736.
3. AST-platelet ratio index, Forns index and FIB-4 in the prediction of significant fibrosis and cirrhosis in patients with chronic hepatitis C / F. Guzelbulut [et al.] // Turk. J. Gastroenterol. – 2011 Jun. – Vol. 22, N 3. – P. 279–285.
4. Paczek, L. Trypsin, elastase, plasmin and MMP-9 activity in the serum during the human ageing process / L. Paczek,

- W. Michalska, I. Bartłomiejczyk // Age. Ageing. – 2008 May. – Vol. 37, N 3. – P. 318–323.
5. Circulating matrix metalloproteinases 1, 2, 9 and their inhibitors TIMP-1 and TIMP-2 as serum markers of liver fibrosis in patients with chronic hepatitis C: comparison with PIIINP and hyaluronic acid / V. Leroy [et al.] // Am. J. Gastroenterol. – 2004 Feb. – Vol. 99, N 2. – P. 271–279.
 6. Определение ферментативной (гиалуронидазной и дезоксирибонуклеазной) активности деполимеризующего действия при аутоиммунной и инфекционной патологии : инструкция по применению / И. И. Генералов [и др.] ; М-во здравоохранения Респ. Беларусь, Витебский гос. ордена Дружбы народов мед. ун-т. – Витебск, 2007. – 11 с.
 7. Определение БАПНА-амидазной активности микроорганизмов, сывороток крови и иммуноглобулинов класса G [Электронный ресурс] : инструкция по применению № 6-0101, утв. М-вом здравоохранения Респ. Беларусь 17 мая 2002 г. / В. К. Окулич [и др.] // Современные методы оказания медицинской помощи (диагностики, лечения и медицинской профилактики заболеваний, медицинской реабилитации пациентов, протезирования) : науч. полнотекстовая база данных. – Минск, 2019. – Режим доступа: <http://med.by/methods/book.php?book=261>. – Дата доступа: 19.08.2019.
 8. Определение активности эластазы в биологических жидкостях / В. К. Окулич [и др.] // Достижения фундаментальной, клинической медицины и фармации : материалы 67-й науч. сесс. сотр. ун-та, Витебск, 2–3 февр. 2012 г. – Витебск, 2012. – С. 100–101.
 9. Метод определения активности дезоксирибонуклеаз сыворотки крови : инструкция по применению № 002-0119, утв. М-вом здравоохранения Респ. Беларусь 6 марта 2019 г. / Г. И. Юпатов [и др.]. – Витебск, 2019. – 8 с.

Поступила 27.03.2019 г.

Принята в печать 25.07.2019 г.

References

1. M-vo zdravookhraneniia Resp Belarus'. Diagnosis and treatment of patients with digestive diseases: klinicheskii protokol: postanovlenie M-va zdravookhraneniia Resp Belarus' 21 avg 2016 g № 90. Gepatologiiia i gastroenterologiiia. 2017;1(1):99-117. (In Russ.)
2. Lin ZH, Xin YN, Dong QJ, Wang Q, Jiang XJ, Zhan SH, et al. Performance of the aspartate aminotransferase-to-platelet ratio index for the staging of hepatitis C-related fibrosis: an updated meta-analysis. Hepatology. 2011 Mar;53(3):726-36. doi: 10.1002/hep.24105
3. Güzelbulut F, Çetinkaya ZA, Sezıklı M, Yaşar B, Ozkara S, Övünç AO. AST-platelet ratio index, Forns index and FIB-4 in the prediction of significant fibrosis and cirrhosis in patients with chronic hepatitis C. Turk J Gastroenterol. 2011 Jun;22(3):279-85. F. doi: 10.4318/tjg.2011.0213
4. Paczek L, Michalska W, Bartłomiejczyk I. Trypsin, elastase, plasmin and MMP-9 activity in the serum during the human ageing process. Age Ageing. 2008 May;37(3):318-23. doi: 10.1093/ageing/afn039
5. Leroy V, Monier F, Bottari S, Trocme C, Sturm N, Hilleret MN, et al. Circulating matrix metalloproteinases 1, 2, 9 and their inhibitors TIMP-1 and TIMP-2 as serum

- markers of liver fibrosis in patients with chronic hepatitis C: comparison with PIIINP and hyaluronic acid. Am J Gastroenterol. 2004 Feb;99(2):271-9.
6. Generalov II, Litvyakov AM, Kunder EV, Moiseeva AM; M-vo zdravookhraneniia Resp Belarus', Vitebskii gos ordena Druzhyby narodov med un-t. Determination of the enzymatic (hyaluronidase and deoxyribonuclease) activity of depolymerizing action in autoimmune and infectious pathologies: instruktssiia po primeneniiu. Vitebsk, RB; 2007. 11 p. (In Russ.)
 7. Okulich VK, Kosinets AN, Sen'kovich SA, Konopel'ko EA. Determination of DAPNA amidase activity of microorganisms, blood serum and class G immunoglobulins [Elektronnyi resurs]: instruktssiia po primeneniiu № 6-0101, utv M-vom zdravookhraneniia Resp Belarus'17 maia 2002 g. V: Sovremennye metody okazaniia meditsinskoi pomoshchi (diagnostiki, lecheniia i meditsinskoi profilaktiki zabolevanii, meditsinskoi rehabilitatsii patsientov, protezirovaniia): nauch polnotekstovoiia baza dannykh. Minsk, RB; 2019. Rezhim dostupa: <http://med.by/methods/book.php?book=261>. Data dostupa: 19.08.2019. (In Russ.)
 8. Okulich VK, Kornilov AV, Savkina YuG, Sen'kovich SA. Determination of elastase activity in biological fluids. V: Dostizheniia fundamental'noi, klinicheskoi meditsiny i

- farmatsii: materialy 67-i nauch ses sotr un-ta, Vitebsk 2–3 fevr 2012 g. Vitebsk, RB; 2012. P. 100-1. (In Russ.)
9. Yupatov GI, Okulich VK, Sen'kovich SA, Prishchepenko VA. Method for determining the activity of serum

deoxyribonucleases: instruktsiia po primeneniui № 002-0119, utv M-vom zdravookhraneniia Resp Belarus' 6 marta 2019 g. Vitebsk, RB; 2019. 8 p. (In Russ.)

Submitted 27.03.2019

Accepted 25.07.2019

Сведения об авторах:

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

Information about authors:

Pryshchepenko V.A. – postgraduate of the Chair of Internal Diseases Propedeutics, 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 пропедевтики внутренних болезней. E-mail: prslava92@gmail.com – Прищепенко Вячеслав Александрович.

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

ВЛИЯНИЕ ПРИВЕРЖЕННОСТИ АНТИСЕКРЕТОРНОЙ ТЕРАПИИ НА РИСК РАЗВИТИЯ ГАСТРОПАТИИ, ИНДУЦИРОВАННОЙ ПРИЁМОМ НЕСТЕРОИДНЫХ ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ СРЕДСТВ

ДИКАРЕВА Е.А.

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

Вестник ВГМУ. – 2019. – Том 18, №4. – С. 60-66.

THE INFLUENCE OF ANTISECRETORY THERAPY ADHERENCE ON THE RISK OF THE DEVELOPMENT OF GASTROPATHY INDUCED BY THE ADMINISTRATION OF NONSTEROIDAL ANTI-INFLAMMATORY AGENTS

DIKAREVA E.A.

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

Vestnik VGMU. 2019;18(4):60-66.

Резюме.

Цель исследования – оценить степень приверженности терапии ингибиторами протонной помпы (ИПП) среди пациентов с ревматоидным артритом, которые продолжительное время использовали нестероидные противовоспалительные средства (НПВС).

Материал и методы. В одномоментное сравнительное исследование, направленное на оценку влияния приверженности антисекреторной терапии на риск развития гастропатии, индуцированной приемом НПВС (НПВС-гастропатии), было включено 56 пациентов (9 мужчин и 47 женщин) с ревматоидным артритом, которые длительное время принимали НПВС и ИПП. Оценка приверженности терапии ИПП осуществлялась с использованием универсального опросника Medication Adherence Questionnaire. Исходя из полученных данных, все опрошенные были поделены на три группы: с низкой (I группа), средней (II группа) и с высокой (III группа) приверженностью профилактическому лечению ИПП.

Результаты. Более половины участников исследования (55,4%) имели низкую или среднюю приверженность данной терапии. Низкая приверженность терапии ИПП была диагностирована в 21,4% случаев.

В I группе статистически значимо чаще, чем в III группе встречалась НПВС-гастропатия ($\chi^2=8,39$; $p=0,004$). Отношение шансов (ОШ) развития НПВС-гастропатии в I группе в сравнении с III группой было равно 24,0 (95% ДИ: 2,41–238,94). Также в I группе статистически чаще была выявлена НПВС-гастропатия по сравнению со II группой ($\chi^2=4,10$; $p=0,043$). ОШ возникновения НПВС-гастропатии в I группе по сравнению со II группой равнялось 8,50 (95% ДИ: 1,33–54,13).

Заключение. При низкой приверженности терапии ИПП эрозивно-язвенные повреждения слизистой оболочки гастродуоденальной зоны, индуцированные приемом НПВС, встречались в 24 раза чаще, чем при высокой приверженности, и в 8,5 раза чаще, чем при средней приверженности данной лекарственной терапии.

Ключевые слова: нестероидные противовоспалительные средства, приверженность, антисекреторные лекарственные средства, ингибиторы протонной помпы.

Abstract.

Objectives. To assess the degree of adherence to therapy with proton-pump inhibitors (PPIs) among patients with rheumatoid arthritis who have been taking nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) for a long time.

Material and methods. In a one-time comparative study aimed at assessing the influence of adherence to antisecretory therapy on the risk of gastropathy development induced by taking NSAIDs (NSAIDs-gastropathy), 56 patients (9 men and 47 women) were involved who were ill with rheumatoid arthritis and received NSAIDs and PPIs for a long time. The evaluation of adherence to PPIs therapy was carried out using the universal Medication Adherence Questionnaire. On the

basis of the data obtained, all respondents were divided into three groups: with low (group I), medium (group II) and high (group III) adherence to preventive PPIs treatment.

Results. More than half of those who participated in the study (55.4%) had low or medium adherence to this therapy. Low adherence to PPIs therapy was diagnosed in 21.4% of cases.

In group I, NSAIDs-gastropathy was found statistically significantly more common than in group III ($\chi^2=8.39$; $p=0.004$). The odds ratio (OR) for the development of NSAIDs-gastropathy in group I compared with group III was 24.0 (95% CI: 2.41–238.94). Also in group I, NSAIDs-gastropathy was revealed statistically more often in comparison with group II ($\chi^2=4.10$; $p=0.043$). OR of occurrence of NSAIDs-gastropathy in group I compared to group II amounted to 8.50 (95% CI: 1.33–54.13).

Conclusions. In case of low adherence to PPIs therapy, erosive-ulcerative mucosal damage to the gastroduodenal zone, induced by NSAIDs, was observed 24.0 times more frequently compared with high adherence and 8.5 times more often in comparison with average adherence to this drug therapy.

Key words: nonsteroidal anti-inflammatory drugs, adherence, antisecretory drugs, proton-pump inhibitors.

Ревматические заболевания занимают одно из основных мест в структуре заболеваний населения. Среди пациентов ревматологического профиля одними из наиболее часто используемых лекарственных средств являются нестероидные противовоспалительные средства (НПВС). Их широкое применение ассоциировано с тем, что они обладают выраженным противовоспалительным и анальгетическим эффектами [1].

Однако использование НПВС может сопровождаться развитием НПВС-гастропатии (гастропатия, индуцированная применением НПВС). Под НПВС-гастропатией понимают развитие эрозивно-язвенных повреждений слизистой оболочки гастродуоденальной зоны и возникновение опасных для жизни осложнений, к которым относятся желудочно-кишечные кровотечения, перфорации и пенетрации [2].

При наличии гастроинтестинальных факторов риска частота НПВС-гастропатии возрастает [3]. Для профилактики развития данного негативного эффекта необходимо использовать гастропротективную терапию. Чаще всего для этого применяют ингибиторы протонной помпы (ИПП).

В многочисленных исследованиях было выявлено, что среди обследованных, принимающих НПВС и имеющих высокий желудочно-кишечный риск развития эрозивно-язвенных повреждений слизистой оболочки гастродуоденальной зоны, гастропротективные лекарственные средства получали не все пациенты. Однако даже среди тех участников исследования, которые принимали лекарственные средства для снижения уровня кислотности в желудке, широко распространена низкая приверженность данной терапии [4].

Под приверженностью терапии понимают использование лекарственных средств в соответствии с назначенной дозой и частотой приема,

соблюдение предписанной диеты, коррекцию образа жизни согласно полученным предписаниям. На первоначальном этапе пациент должен дать согласие соблюдать данные медицинские назначения [5].

Низкая приверженность терапии является международной проблемой и связана с развитием неэффективности назначенной терапии и большого количества осложнений. Низкая приверженность вносит огромный вклад в прогрессирование хронических заболеваний, приводит к увеличению срока временной нетрудоспособности вплоть до инвалидности [6].

Для стандартизации оценки приверженности медикаментозной терапии были созданы специальные опросники. Существуют специализированные опросники, с помощью которых оценивают приверженность терапии только при какой-то определенной патологии, а также имеются универсальные опросники, которые применяются при различной патологии. Чаще всего оценка приверженности медикаментозной терапии используется в кардиологической практике (при оценке приверженности терапии антигипертензивными лекарственными средствами, приверженности терапии после инфаркта миокарда и др.) [7].

Наиболее распространенным универсальным валидизированным опросником по оценке приверженности медикаментозной терапии является опросник Мориски-Грина Medication Adherence Questionnaire (MAQ). Данный опросник состоит из четырех вопросов, которые касаются приема лекарственных средств:

– забывали ли вы когда-нибудь принимать лекарственные средства?

– бывали ли вы невнимательны к приему лекарственных средств?

– прекращали ли вы принимать лекарственные средства при улучшении самочувствия?

– прекращали ли вы использование лекарственных средств, если у вас было ухудшение самочувствия во время приема лекарственных средств?

Опросник МАQ рассчитан на то, что обследуемые стремятся ответить «да» на поставленный вопрос. Однако в данном опроснике вопросы составлены таким образом, что ответ «да» означает отсутствие приверженности назначенной терапии. Опросник Мориски-Грина весьма прост для его интерпретации [8].

Ревматоидный артрит является одним из основных ревматологических заболеваний, при котором пациенты для снижения болевого синдрома принимают НПВС. Для снижения частоты развития НПВС-гастропатии при наличии гастроинтестинальных факторов риска пациенты используют гастропротективную лекарственную терапию [9].

Однако ранее не оценивалось влияние приверженности антисекреторной терапии у пациентов с ревматоидным артритом на риск развития НПВС-гастропатии.

Цель исследования – оценить степень приверженности терапии ИПП среди пациентов с ревматоидным артритом, которые продолжительное время использовали НПВС.

Материал и методы

В одномоментное сравнительное исследование, направленное на оценку влияния приверженности антисекреторной терапии на риск развития НПВС-гастропатии, были включены пациенты с ревматоидным артритом, которые длительное время принимали НПВС. Было опрошено 56 пациентов (9 мужчин и 47 женщин), которые для профилактики развития НПВС-гастропатии принимали ИПП. Возраст участников исследования был от 32 до 76 лет. Медиана возраста участников исследования ($M \pm \sigma$) составила $56,6 \pm 9,8$ года. Минимальная длительность ревматоидного артрита равнялась 2,5 года, максимальная – 36 лет. Медиана длительности ревматоидного артрита была $12,5 \pm 7,6$ года.

Минимальная продолжительность приёма НПВС была 2,5 года, максимальная составила 25,0 лет. Медиана длительности использования НПВС составила $11,4 \pm 5,9$ года. Участники исследования использовали НПВС в стандартных

дозах. Чаще всего обследованные принимали нимесулид (64,2%). Частота использования мелоксикама равнялась 28,6%. Менее часто пациенты употребляли диклофенак (5,4%) и ацеклофенак (1,8%).

Для профилактики развития эрозивно-язвенных гастродуоденальных повреждений слизистой оболочки, индуцированных приемом НПВС, все пациенты, включенные в исследование, использовали ИПП. Минимальная продолжительность приема ИПП равнялась одному месяцу, а максимальная длительность использования ИПП была 13 лет. Медиана использования антисекреторной терапии равнялась $3,8 \pm 3,4$ года.

В данном исследовании для изучения влияния уровня приверженности терапии ИПП применялся универсальный валидизированный опросник МАQ. При ответе «нет» начисляется 1 балл, а при ответе «да» баллы не зачисляются. Если респондент ответил на все вопросы «нет», то это расценивали как высокую приверженность терапии. В том случае, если на два-три вопроса в анкете пациент давал ответ «нет», то это определяли как среднюю приверженность. Если на один из представленных вопросов обследуемый отвечал «нет» либо ответ «нет» вообще отсутствовал, то участнику исследования диагностировали низкую приверженность терапии.

Исходя из полученных данных, все опрошенные были поделены на три группы: с низкой (I группа), средней (II группа) и с высокой (III группа) приверженностью антисекреторной терапии. Стоит отметить, что оценку приверженности профилактической терапии ИПП осуществляли до проведения видеоэзофагогастродуоденоскопии (ЭГДС), которая выполнялась с использованием стандартной методики. Микроорганизм *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) определяли, используя одновременно серологический и морфологический методы.

В ходе исследования было выполнено сравнение частоты возникновения НПВС-гастропатии в зависимости от уровня приверженности терапии ИПП между группами с низкой (I группа), средней (II группа) и с высокой (III группа) приверженностью.

Статистический анализ данных проводился при помощи программного пакета STATISTICA 10.0, разработанного компанией StatSoft. Оценку соответствия нормальному распределению выполняли с использованием теста Колмогорова-Смирнова и W-теста Шапиро-Уилка. Сопо-

ставление возраста, продолжительности ревматоидного артрита, длительности использования НПВС было выполнено с использованием метода непараметрической статистики ANOVA Краскелла-Уоллиса. Сравнение частоты развития эрозивно-язвенных повреждений слизистой оболочки гастродуоденальной зоны, инфицированности микроорганизмом *H. pylori* проводили по критерию χ^2 Пирсона-Фишера. Для выявления риска развития НПВС-гастропатии использовали отношение шансов (ОШ). Отличия считались статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Из 56 пациентов, которые использовали профилактическую антисекреторную терапию ИПП, более половины участников исследования (55,4%) имели низкую или среднюю приверженность данной терапии. В 21,4% случаев была определена низкая приверженность терапии ИПП.

Между группами пациентов не было определено различий по частоте применения лекарственных средств из группы НПВС и их длительности приема ($p > 0,05$). Также группы с низкой, средней и с высокой приверженностью антисекреторной терапии не различались по возрасту, длительности ревматоидного артрита, продолжительности использования НПВС и ИПП, частоте определения микроорганизма *H. pylori*.

НПВС-гастропатия была диагностирована у 9 человек (16,1%) из 56 участников исследования. Эрозии желудка имели место в 8 случаях, а язва желудка была диагностирована только у одного обследованного. У 47 пациентов (83,9%) эрозивно-язвенные повреждения гастродуоденальной слизистой оболочки отсутствовали. В I группе среди пациентов с низкой приверженностью НПВС-гастропатия была выявлена у 6 (50,0%) из 12 участников исследования. Во II группе среди обследованных со средней приверженностью НПВС-гастропатия была определена у 2 (11,8%) из 19 человек. В одном случае имела место язва желудка, а во втором случае была определена эрозия слизистой оболочки желудка. У пациентов III группы с высокой приверженностью НПВС-гастропатия была диагностирована только у 1 (4,0%) из 25 участников исследования.

В I группе с низкой приверженностью статистически значимо чаще, чем в III группе с высокой приверженностью, встречалась НПВС-гастропатия ($\chi^2=8,39$; $p=0,004$). ОШ развития эро-

зивно-язвенных повреждений, ассоциированных с использованием НПВС, в I группе в сравнении с III группой было равно 24,0 (95% ДИ: 2,41-238,94). Также в I группе статистически чаще была выявлена НПВС-гастропатия по сравнению со II группой, где у пациентов была определена средняя приверженность ($\chi^2=4,10$; $p=0,043$). ОШ возникновения НПВС-гастропатии в I группе по сравнению со II группой равнялось 8,50 (95% ДИ: 1,33-54,13).

Группа III с высокой приверженностью и группа II со средней приверженностью статистически не различались между собой по частоте возникновения эрозивно-язвенных повреждений слизистой оболочки гастродуоденальной зоны, индуцированных использованием НПВС ($\chi^2=0,06$; $p=0,805$). ОШ развития НПВС-гастропатии во II группе со средней приверженностью по сравнению с III группой с высокой приверженностью равнялось 2,82 (95% ДИ: 0,24-33,70).

Следовательно, низкая приверженность терапии ИПП ассоциировалась с двадцатичетырехкратным увеличением риска развития НПВС-гастропатии по сравнению с высокой приверженностью терапии ИПП. У пациентов с низкой приверженностью профилактической антисекреторной терапии риск возникновения НПВС-гастропатии возрастал в 8,5 раза по сравнению с обследованными, которые имели среднюю приверженность данной терапии.

Все случаи НПВС-гастропатии, которые были диагностированы в ходе данного исследования, не угрожали жизни пациентов, однако могли в дальнейшем привести к развитию тяжелых эрозивно-язвенных кровотечений, перфораций или пенетраций.

Повышение приверженности медикаментозной терапии является основополагающим направлением современной медицины. В настоящее время проводятся многочисленные исследования, направленные на изучение приверженности терапии. Однако низкая приверженность продолжает оставаться одной из главных проблем. Наибольшую значимость низкая приверженность приобретает у пациентов с коморбидной патологией.

Приверженность терапии является основополагающим показателем для повышения качества жизни и нормализации здоровья пациентов. Особое место приверженность терапии занимает среди пожилых людей. Это связано с тем, что данная категория граждан имеет одновременно

несколько заболеваний. Низкая приверженность терапии сопровождается плохим контролем над заболеваниями, возникновением осложнений и развитием неблагоприятных исходов. В связи с этим приходится увеличивать объем лекарственной терапии либо проводить экстренную госпитализацию пациентов в стационар [10].

В многочисленных исследованиях говорится о том, что адекватная профилактическая терапия НПВС-гастропатии сопровождается значительным снижением частоты развития гастроинтестинальных осложнений [11, 12]. Однако одним из главных факторов, содействующих профилактике развития желудочно-кишечных кровотечений и перфораций, индуцированных использованием НПВС, остается четкое следование рекомендациям по одновременному применению НПВС с антисекреторными лекарственными средствами, к которым относятся ингибиторы H_2 -гистаминовых рецепторов и ИПП [13].

Главной группой лекарственных средств, которая используется для профилактики развития НПВС-гастропатии и тяжелых желудочно-кишечных осложнений, являются ИПП. В то же время, если у пациентов отсутствует приверженность использованию данной профилактической терапии, то это сопровождается увеличением частоты развития НПВС-индуцированных язв в четыре раза. При снижении приверженности антисекреторной терапии на каждые 10% вероятность развития эрозивно-язвенных повреждений возрастает на 16% [14].

В многочисленных исследованиях акцентируется внимание на том, что приверженность терапии занимает основополагающее место при лечении пациентов с хроническими заболеваниями [14-16]. Установлено, что через полгода отмечается значимое снижение уровня приверженности лекарственной терапии до 48-73% [17, 18]. Изучение исследований за 50 лет показало, что 25-40% респондентов имели низкую приверженность терапии [15].

Главной причиной развития НПВС-гастропатии является низкая приверженность терапии ИПП. Выявлено, что пациенты с риском возникновения НПВС-гастропатии не принимали в необходимом объеме антисекреторные лекарственные средства [11].

Ретроспективное швейцарское исследование, в котором оценивалась приверженность профилактической антисекреторной терапии среди обследованных с ревматоидным артритом, остео-

артритом и анкилозирующим спондилоартритом показало, что приверженность приему ИПП у данных пациентов равнялась 73%-81% [19].

Частота профилактического приема ИПП, мизопростол и ингибиторы H_2 -гистаминовых рецепторов среди участников исследования, принимающих НПВС, оценивалась в ретроспективном исследовании, которое проводилось в США. J. Goldstein и соавторы в данной работе изучили частоту возникновения гастродуоденальных язв и/или желудочно-кишечных кровотечений. В данном исследовании было выявлено, что среди 144 203 обследованных, которые впервые стали принимать НПВС, только 1,8% пациентов использовали профилактическую антисекреторную терапию. Было установлено, что частота использования антисекреторной терапии возрастала при наличии факторов риска развития НПВС-гастропатии. В данной работе было выявлено, что приверженность сопутствующей антисекреторной терапии 80% и более была выявлена у 68% пациентов. Риск развития язв и гастродуоденальных осложнений возрастал среди тех участников исследования, которые принимали неселективные НПВС и имели приверженность профилактическому антисекреторному лечению менее 80% (относительный риск = 2,4; 95% ДИ: 1,0-5,6) [12].

Е.М. van Soest и соавторы в своем исследовании констатировали, что относительный риск развития гастродуоденальных осложнений был выше среди тех пациентов, которые имели приверженность антисекреторной терапии 20-80% и менее 20% в сравнении с теми обследованными, у которых была диагностирована приверженность профилактическому лечению более 80% (2,5 (95% ДИ: 1,0-6,7) и 4,0 (95% ДИ: 1,2-13,0) соответственно [20].

Р.А. Deyo и соавторы установили, что приверженность терапии среди обследованных с патологией суставов равнялась 64% и была ассоциирована с видом лекарственных средств [21].

Низкая приверженность профилактической антисекреторной терапии среди участников исследования, использующих НПВС, зависит от количества применяемых одновременно лекарственных средств и стоимости назначенной терапии. Отсутствие диспепсических проявлений ассоциировано с прекращением профилактической антисекреторной терапии [22].

Следовательно, проблема приверженности назначенной терапии является актуальной и имеет как региональное, так и мировое значение. Много-

численные европейские, американские и российские исследования оценивали приверженность профилактической антисекреторной терапии на риск развития НПВС-гастропатии и ее осложнений среди пациентов, которые только начали терапию НПВС. Следует заметить, что отсутствуют данные о влиянии приверженности профилактической антисекреторной терапии на частоту развития гастродуоденальных язв и их осложнений среди пациентов, которые постоянно в течение длительного времени принимают НПВС.

Заключение

Более половины участников исследования (55,4%) имели низкую или среднюю приверженность профилактической антисекреторной терапии ИПП среди пациентов с ревматоидным артритом, длительно принимающих НПВС. Низкая приверженность терапии ИПП была диагностирована в 21,4% случаев. При низкой приверженности терапии ИПП эрозивно-язвенные повреждения слизистой оболочки гастродуоденальной зоны, индуцированные приемом НПВС, встречались в 24,0 раза чаще, чем при высокой приверженности, и в 8,5 раз чаще, чем при средней приверженности данной лекарственной терапии.

Литература

1. Клинические, эндоскопические и морфологические эффекты эрадикации *Helicobacter pylori* у пациентов, длительно использующих нестероидные противовоспалительные средства / Е. А. Дикарева [и др.] // Вестн. ВГМУ. – 2014. – Т. 13, № 5. – С. 52–59.
2. Значение генов *Helicobacter pylori* в развитии гастропатии, индуцированной приёмом нестероидных противовоспалительных средств / Е. А. Дикарева [и др.] // Проблемы здоровья и экологии. – 2015. – № 2. – С. 37–41.
3. Дикарева, Е. А. Оценка риска развития гастропатии, индуцированной приёмом нестероидных противовоспалительных средств, на основе международных согласительных документов / Е. А. Дикарева, Е. В. Макаренко, С. И. Пиманов // Вестн. ВГМУ. – 2015. – Т. 14, № 5. – С. 39–45.
4. Дикарева, Е. А. Влияние приверженности лечению ингибиторами протонной помпы на частоту возникновения гастропатии, индуцированной приёмом нестероидных противовоспалительных средств / Е. А. Дикарева // Вестн. ВГМУ. – 2015. – Т. 14, № 1. – С. 41–47.
5. Concordance, adherence and compliance in medicine taking [Пиманов, С. И. Соблюдение схемы терапии ингибиторами протонного насоса при постоянном приёме нестероидных противовоспалительных средств / С. И. Пиманов, Е. В. Макаренко, Е. А. Дикарева // Терапевт. архив. – 2015. – Т. 87, № 4. – С. 58–61.
6. Пиманов, С. И. Фармакотерапия кислотозависимых заболеваний: проверенные истины и новые рекомендации / С. И. Пиманов, Е. В. Макаренко, Е. А. Руселик // Мед. совет. – 2012. – № 3. – С. 22–28.
7. Пиманов, С. И. Приверженность к фармакотерапии – необходимое условие эффективного лечения / С. И. Пиманов, Е. А. Дикарева, Е. В. Макаренко // Лечеб. дело. – 2014. – № 5. – С. 47–52.
8. Пиманов, С. И. Антисекреторная терапия: убедительная польза и потенциальный риск / С. И. Пиманов, Е. В. Макаренко, Е. А. Дикарева // Мед. совет. – 2018. – № 3. – С. 26–31.
9. Hughes, C. M. Medication non-adherence in the elderly: how big is the problem? / С. М. Hughes // Drugs Aging. – 2004. – Vol. 21, N 12. – P. 793–811.
10. Adherence to proton pump inhibitors or H2-receptor antagonists during the use of non-steroidal anti-inflammatory drugs / M. C. Sturkenboom [et al.] // Aliment. Pharmacol. Ther. – 2003 Dec. – Vol. 18, N 11/12. – P. 1137–1147.
11. Impact of adherence to concomitant gastroprotective therapy on nonsteroidal-related gastroduodenal ulcer complication / J. L. Goldstein [et al.] // Clin. Gastroenterol. Hepatol. – 2006 Nov. – Vol. 4, N 11. – P. 1337–1345.
12. Melcarne, L. Management of NSAID-associated peptic ulcer disease / L. Melcarne, P. Garcia-Iglesias, X. Calvet // Expert Rev. Gastroenterol. Hepatol. – 2016 Jun. – Vol. 10, N 6. – P. 723–733.
13. Adherence to gastroprotection and the risk of NSAID-related upper gastrointestinal ulcers and haemorrhage / E. M. van Soest [et al.] // Aliment. Pharmacol. Ther. – 2006 Jul. – Vol. 26, N 2. – P. 265–275.
14. DiMatteo, M. R. Variations in patients' adherence to medical recommendations: a quantitative review of 50 years of research / M. R. DiMatteo // Med. Care. – 2004 Mar. – Vol. 42, N 3. – P. 200–209.
15. Adherence to long-term therapies: evidence for action [Jackevicius, C. A. Adherence with statin therapy in elderly patients with and without acute coronary syndromes / C. A. Jackevicius, M. Mandami, J. V. Tu // JAMA. – 2002 Jul. – Vol. 288, N 4. – P. 462–467.
16. Haynes, R. B. Helping patients follow prescribed treatment: clinical application / R. B. Haynes, H. P. McDonald, A. X. Garg // JAMA. – 2002 Dec. – Vol. 288, N 22. – P. 2880–2883.
17. Henriksson, K. Patient-reported adherence to coprescribed proton pump inhibitor gastroprotection in osteoarthritis, rheumatoid arthritis, and ankylosing spondylitis patients using nonsteroidal anti-inflammatory drugs / K. Henriksson, J. From, G. Stratelis // Patient Prefer. Adherence. – 2014 Nov. – Vol. 18, N 8. – P. 1611–1617.
18. Adherence to gastroprotection and the risk of NSAID-related upper gastrointestinal ulcers and haemorrhage / E. M. van Soest [et al.] // Aliment. Pharmacol. Ther. – 2006 Jul. – Vol. 26, N 2. – P. 265–275.
19. Deyo, R. A. Noncompliance with arthritis drugs: magnitude, correlates, and clinical implications / R. A. Deyo, T. S. Inui, B. Sullivan // J. Rheumatol. – 1981 Nov-Dec. – Vol. 8, N 6. – P. 931–936.
20. Prescription of and adherence to non-steroidal anti-inflammatory drugs and gastroprotective agents in at-risk gastrointestinal patients / A. Lanis [et al.] // Am. J. Gastroenterol. – 2012 May. – Vol. 107, N 5. – P. 707–714.

Поступила 20.05.2019 г.

Принята в печать 25.07.2019 г.

References

- Dikareva EA, Matveenko ME, Pimanov SI, Makarenko EV. Clinical, endoscopic and morphological effects of *Helicobacter pylori* eradication in patients with long-term use of non-steroidal anti-inflammatory agents. *Vestn VGMU*. 2014;13(5):52-9. (In Russ.)
- Dikareva EA, Voropaeva AV, Makarenko EV, Pimanov SI. The importance of *Helicobacter pylori* genes in the development of gastropathy induced by non-steroidal anti-inflammatory drugs. *Problemy Zdorov'ia Ekologii*. 2015;(2):37-41. (In Russ.)
- Dikareva EA, Makarenko EV, Pimanov SI. Risk assessment of gastropathy induced by non-steroidal anti-inflammatory drugs on the basis of international conciliation documents. *Vestn VGMU*. 2015;14(5):39-45. (In Russ.)
- Dikareva EA. Influence of adherence to proton pump inhibitor treatment on the frequency of gastropathy induced by non-steroidal anti-inflammatory drugs. *Vestn VGMU*. 2015;14(1):41-7. (In Russ.)
- Horne R, Weinman J, Barber N, Elliott R, Morgan M. Concordance, adherence and compliance in medicine taking [Pimanov SI, Makarenko EV, Dikareva EA. Compliance with proton pump inhibitor therapy with constant use of non-steroidal anti-inflammatory agents. *Terapevt Arkhiv*. 2015;87(4):58-61. (In Russ.)
- Pimanov SI, Makarenko EV, Ruselik EA. Pharmacotherapy for acid-dependent diseases: proven truths and new recommendations. *Med Sovet*. 2012;(3):22-8. (In Russ.)
- Pimanov SI, Dikareva EA, Makarenko EV. Adherence to pharmacotherapy is a prerequisite for effective treatment. *Lecheb Delo*. 2014;(5):47-52. (In Russ.)
- Pimanov SI, Makarenko EV, Dikareva EA. Anti-secretory therapy: convincing benefits and potential risks. *Med Sovet*. 2018;(3):26-31. (In Russ.)
- Hughes CM. Medication non-adherence in the elderly: how big is the problem? *Drugs Aging*. 2004;21(12):793-811. doi: 10.2165/00002512-200421120-00004
- Sturkenboom MC, Burke TA, Tangelder MJ, Dieleman JP, Walton S, Goldstein JL. Adherence to proton pump inhibitors or H2-receptor antagonists during the use of non-steroidal anti-inflammatory drugs. *Aliment Pharmacol Ther*. 2003 Dec;18(11-12):1137-47.
- Goldstein JL, Howard KB, Walton SM, McLaughlin TP, Kruzikas DT. Impact of adherence to concomitant gastroprotective therapy on nonsteroidal-related gastroduodenal ulcer complication. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2006 Nov;4(11):1337-45.
- Melcarne L, Garcia-Iglesias P, Calvet X. Management of NSAID-associated peptic ulcer disease. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol*. 2016 Jun;10(6):723-33. doi: 10.1586/17474124.2016.1142872.
- van Soest EM, Sturkenboom MC, Dieleman JP, Verhamme KM, Siersema PD, Kuipers EJ. Adherence to gastroprotection and the risk of NSAID-related upper gastrointestinal ulcers and haemorrhage. *Aliment Pharmacol Ther*. 2007 Jul;26(2):265-75. doi: 10.1111/j.1365-2036.2007.03358.x
- DiMatteo MR. Variations in patients' adherence to medical recommendations: a quantitative review of 50 years of research. *Med Care*. 2004 Mar;42(3):200-9.
- World Health Organization. Adherence to long-term therapies: evidence for action [Jackevicius CA, Mandami M, Tu JV. Adherence with statin therapy in elderly patients with and without acute coronary syndromes. *JAMA*. 2002 Jul;288(4):462-7. doi: 10.1001/jama.288.4.462
- Haynes RB, McDonald HP, Garg AX. Helping patients follow prescribed treatment: clinical application. *JAMA*. 2002 Dec;288(22):2880-3. doi: 10.1001/jama.288.22.2880
- Henriksson K, From J, Stratelis G. Patient-reported adherence to coprescribed proton pump inhibitor gastroprotection in osteoarthritis, rheumatoid arthritis, and ankylosing spondylitis patients using nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *Patient Prefer Adherence*. 2014 Nov;8:1611-7. doi: 10.2147/PPA.S70651
- van Soest EM, Sturkenboom MC, Dieleman JP, Verhamme KM, Siersema PD, Kuipers EJ. Adherence to gastroprotection and the risk of NSAID-related upper gastrointestinal ulcers and haemorrhage. *Aliment Pharmacol Ther*. 2007 Jul;26(2):265-75. doi: 10.1111/j.1365-2036.2007.03358.x
- Deyo RA, Inui TS, Sullivan B. Noncompliance with arthritis drugs: magnitude, correlates, and clinical implications. *J Rheumatol*. 1981 Nov-Dec;8(6):931-6.
- Lanas A, Polo-Tomás M, Roncales P, Gonzalez MA, Zapardiel J. Prescription of and adherence to non-steroidal anti-inflammatory drugs and gastroprotective agents in at-risk gastrointestinal patients. *Am J Gastroenterol*. 2012 May;107(5):707-14. doi: 10.1038/ajg.2012.13

Submitted 20.05.2019

Accepted 25.07.2019

Сведения об авторах:

Дикарева Е.А. – к.м.н., доцент кафедры врача общей практики с курсом поликлинической терапии, Витебский государственный орден Дружбы народов медицинский университет.

Information about authors:

Dikareva E.A. – Candidate of Medical Sciences, associate professor of the General Practitioner Chair with the course of Outpatient Therapy, Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University.

Адрес для корреспонденции: Республика Беларусь, 210009, г. Витебск, пр. Фрунзе, 27, Витебский государственный орден Дружбы народов медицинский университет, кафедра врача общей практики с курсом поликлинической терапии. E-mail: ruselikelena@mail.ru – Дикарева Елена Александровна.

Correspondence address: Republic of Belarus, 210009, Vitebsk, 27 Frunze ave., Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University, General Practitioner Chair with the course of Outpatient Therapy. E-mail: ruselikelena@mail.ru – Elena A. Dikareva.

ФАКТОРЫ РИСКА ФОРМИРОВАНИЯ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЫ У ДЕТЕЙ ГРОДНЕНСКОЙ ОБЛАСТИ

ХОХА Р.Н.

Гродненский государственный медицинский университет, г. Гродно, Республика Беларусь

Вестник ВГМУ. – 2019. – Том 18, №4. – С. 67-73.

RISK FACTORS OF BRONCHIAL ASTHMA DEVELOPMENT IN CHILDREN RESIDING IN GRODNO REGION

КНОКНА R.N.

Grodno State Medical University, Grodno, Republic of Belarus

Vestnik VGMU. 2019;18(4):67-73.

Резюме.

Цель исследования – установить факторы риска формирования бронхиальной астмы у детей Гродненской области. Материал и методы. Проведен сравнительный анализ частоты встречаемости факторов в группе детей с верифицированным диагнозом «бронхиальная астма» (n=289) и в группе детей без хронических заболеваний органов дыхания (n=147). Для каждого фактора было рассчитано отношение шансов (ОР) и его 95% ДИ.

Результаты и обсуждение. Частоты встречаемости анализируемых факторов в группе детей с бронхиальной астмой превышали таковые в группе сравнения. Для формирования бронхиальной астмы наиболее значимыми (p<0,05) для Гродненского региона являются следующие факторы: отягощенный генеалогический анамнез по бронхиальной астме (ОР–7,44, ДИ: 2,92–18,97) и аллергическим заболеваниям (ОР–5,96, ДИ: 3,78–9,4), образование родителей на момент рождения ребенка (мать – среднее ОР–3,36, ДИ: 1,55–7,28, отец – высшее ОР–1,82, ДИ: 1,42–2,97), искусственное вскармливание на первом году жизни (ОР–6,27, ДИ: 2,8–14,04), частые острые респираторные инфекции до 2 лет (ОР–2,22, ДИ: 1,31–3,77), недифференцированная дисплазия соединительной ткани (ОР–9,17, ДИ: 4,55–18,49), атопический дерматит (ОР–2,52, ДИ: 1,4–4,53), аллергические реакции на лекарственные препараты (ОР–8,39, ДИ: 2,56–27,53). Полученные результаты можно использовать с целью профилактики и ранней диагностики бронхиальной астмы у детей на территории Гродненской области.

Ключевые слова: дети, бронхиальная астма, факторы риска.

Abstract.

Objectives. To determine risk factors of the development of bronchial asthma in children residing in Grodno region.

Material and methods. A comparative analysis of the occurrence frequency of factors in the group of children with a verified diagnosis of bronchial asthma (n=289) and in the group of children without any chronic respiratory diseases (n=147) was made. The odds ratio (OR) and its 95% confidence interval (CI) were calculated for each factor.

Results. The occurrence frequency of the analyzed factors in the group of children with bronchial asthma exceeded those in the comparison group. For the development of bronchial asthma, the most significant factors (p<0.05) with regard to Grodno region are as follows: a burdened genealogical history concerning bronchial asthma (OR–7.44, CI: 2.92–18.97) and allergic diseases (OR–5.96, CI: 3.78–9.4), parental education at the time of childbirth (mother’s specialized secondary education OR–3.36, CI: 1.55–7.28; father’s higher education OR–1.82, CI: 1.42–2.97), bottle feeding during the first year of life (OR–6.27, CI: 2.8–14.04), frequent acute respiratory infections up to 2 years (OR–2.22, CI: 1.31–3.77), undifferentiated connective tissue dysplasia (OR–9.17, CI: 4.55–18.49), atopic dermatitis (OR–2.52, CI: 1.4–4.53), allergic reactions to drugs (OR–8.39, CI: 2.56–27.53).

Conclusions. The results obtained can be used with the purpose of preventing and early diagnosing bronchial asthma in children on the territory of Grodno region.

Key words: children, bronchial asthma, risk factors.

Бронхиальная астма (БА) – одно из самых распространенных хронических неинфекционных заболеваний органов дыхания у детей [1]. БА является заболеванием, в развитии которого сочетаются генетические факторы и воздействие факторов окружающей среды, формирующих фенотипические особенности в зависимости от возраста, сроков дебюта, типа воспаления в бронхах [2]. Воздействие аллергенов не только провоцирует начало заболевания, но и определяет вариабельность симптомов БА. БА, ассоциированная с ожирением, рассматривается как фенотип, который характеризуется особыми патогенетическими механизмами [3]. Курение табака [4, 5], респираторные инфекции [6], воздушные поллютанты [7] также рассматриваются в качестве факторов риска БА. Как возможные неблагоприятные факторы рассматриваются: молодой возраст матери, маркеры роста плода [8], многоплодная беременность [9], перинатальная асфиксия, недоношенность [10], низкая масса тела, большие размеры головы у новорожденных [11], месяц рождения, очередность рождения и количество детей в семье, употребление в пищу фруктов, богатых витамином С, антиоксидантов и ω -3-полиненасыщенных жирных кислот [12]. Риск развития БА у детей в дошкольном возрасте значительно ниже у тех из них, кто находился на грудном вскармливании хотя бы первые 4 месяца жизни. Распространенность заболевания, факторы, способствующие формированию заболевания, зависят от климато-географических особенностей, социальных факторов [13, 14], экономического развития страны. Исходя из этого, актуальным является изучение причинных факторов, способствующих развитию БА с учетом региональных особенностей, так как их недооценка приводит не только к формированию данной патологии, но и к утяжелению течения и ухудшению прогноза.

Цель исследования – установить факторы риска формирования БА у детей Гродненской области.

Материал и методы

Для проверки гипотезы о влиянии факторов риска на развитие БА сравнивали их частоты в группе детей с верифицированным диагнозом БА (основная группа, $n=289$) и в группе детей без хронических заболеваний органов дыхания сопоставимого возраста (группа сравнения, $n=147$).

Обе группы формировались по одним и тем же критериям включения/исключения, кроме диагноза БА для группы сравнения. Источник информации об изучаемых факторах – письменные данные из медицинской документации (выписка из родильного отделения, медицинская карта стационарного пациента (форма № 003/у-07), амбулаторная карта (форма 112/у)), сведения, полученные при собеседовании с родителями. Учитывались следующие факторы: отягощенный семейный анамнез по БА, аллергическим заболеваниям (АЗ), возраст и образование родителей на момент рождения ребенка, состав семьи (полная/неполная), сезон и очередность рождения, масса и длина тела при рождении, течение беременности, способ родоразрешения, характер вскармливания, длительность грудного вскармливания, заболеваемость острыми респираторными инфекциями (ОРИ) на первом и втором годах жизни, наличие коморбидных заболеваний, симптомы недифференцированной дисплазии соединительной ткани (НДСТ), ИМТ ($\text{кг}/\text{м}^2$).

Диагноз БА был установлен в соответствии с рекомендациями «Глобальной инициативы по бронхиальной астме (GINA, 2014)», «Клинических протоколов диагностики и лечения аллергических заболеваний у детей» (Минск, 2014). Статистическая обработка полученных результатов выполнена с использованием пакета программ StatisticaforWindows v.6.0, StatSoftInc. (США). Проверка нормальности распределения количественных переменных проведена с использованием критерия Колмогорова-Смирнова. Поскольку количественные переменные имели распределение, отличное от нормального, при статистическом анализе использовались методы непараметрической статистики. В качестве меры центральной тенденции указывалась медиана (Me), в качестве меры рассеяния – интерквартильный интервал [Q1; Q3] – значения 25-го и 75-го квартилей. Достоверность различий количественных признаков между двумя группами оценивалась по критерию Манна-Уитни. Описание качественных признаков осуществлялось путем вычисления абсолютных значений и относительных частот (%) с указанием 95% доверительного интервала (95% ДИ). Для сравнения относительных частот качественных признаков использовался критерий χ^2 и сравнение ДИ относительных частот. Если ДИ не перекрываются, то различия частот можно считать значимыми. Относительный риск воздействия оценивали по отношению шансов (OR). Достоверными счи-

тались результаты, при которых значение $OR > 1$ и минимальный $95\% ДИ > 1$. Статистически значимыми считались различия при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Формирование БА обусловлено воздействием комплекса факторов: генетических и факторов окружающей среды. Характеристика наследственных факторов представлена в таблице 1, из которой видно, что частота наследственной отягощенности по АЗ и БА чаще встречается у детей основной группы, чем у детей группы сравнения.

Предпосылки для формирования патологических процессов формируются на ранних стадиях онтогенеза. Они тесно связаны как с состоянием здоровья родителей, так и с течением внутриутробного периода жизни. В связи с этим нами был проведен анализ особенностей перинатального периода у детей с БА и детей группы сравнения (табл. 2). Было установлено, что дети с БА чаще рождались от матерей, имеющих среднее образование и реже от матерей, имеющих среднее специальное образование. В случае отцов в группе детей с БА отмечалось увеличение частоты высшего образования. На момент рождения детей, у которых в последующем развилась БА, средний возраст матери составил 24,0 [22,0; 29,0] года, отца – 26,0 [24,0; 31,0] лет, что было меньше, чем в группе здоровых детей (мать 27,0 [24,0; 31,5] лет, $p = 0,0206$; отец 29,0 [25,0; 34,0] лет, $p = 0,0106$). Различий в частоте встречаемости возраста родителей до 18 лет и старше 40 лет, состава семьи (неполная семья) в сравниваемых группах получено не было ($p > 0,05$). Усиление сенсibilизации организма возможно в результате повышенного поступления аллергенов во время антенатального периода. Высказывается предположение, что если кто-либо из родителей страдает аллергией к пыльце, рождение ребенка в сезон цветения аллергенных растений располагает к развитию у него аллергии в последующем. Различий в частоте встречаемости как вышеназванных факторов, так и в частоте

встречаемости родоразрешения путем кесарева сечения, порядкового номера родов, массы тела при рождении < 2700 и > 4000 г, длины тела при рождении < 46 и > 56 см в сравниваемых группах нами получено не было, что согласуется с результатами аналогичных исследований, проведенных в Дании [15].

Характер вскармливания ребенка на первом году жизни играет значительную роль в становлении иммунной системы. В анализируемых группах были дети, которые с рождения получали как искусственное, так и грудное вскармливание, причем количество детей, получавших искусственное вскармливание с рождения, было больше среди детей с БА. Медианное значение продолжительности грудного вскармливания в группе детей с БА было меньше (3,0 [0; 12] мес.), чем у здоровых детей (6,0 [3; 12] мес.), но эти различия не были статистически значимыми ($p > 0,05$). Нами также был проведен анализ возраста выставления детям диагноза БА в зависимости от вида вскармливания и продолжительности грудного вскармливания (рис. 1).

Как видно, диагноз БА в более позднем возрасте был выставлен детям, которые находились на грудном вскармливании до 6 мес. Увеличение продолжительности грудного вскармливания не оказывало влияния на увеличение возраста, в котором детям выставлялся диагноз БА.

Внешние факторы являются индукторами БА, риск развития заболевания увеличивается у детей, которые в первые два года жизни часто болеют ОРИ. Как следует из наших исследований, дети с БА по сравнению со здоровыми в 2 раза чаще на первом и втором годах жизни болели ОРИ. Среди сопутствующих АЗ в основной группе была увеличена частота атопического дерматита, что по всей вероятности отражает этапность формирования аллергии. Также в этой группе детей была увеличена частота аллергических реакций при приеме лекарственных препаратов. БА является заболеванием, которое достаточно часто развивается на фоне дисплазии соединительной ткани. В исследованиях, проведенных нами ранее (Хоха Р.Н., Мацюк Т.В., 2011; Хоха

Таблица 1 – Характеристика наследственных факторов, абсолютное число (% , 95% ДИ)

Фактор	Основная группа	Группа сравнения
Наследственная отягощенность по БА	60 (20,76,16,47–25,82)*	5 (3,4,1,25–7,93)
Наследственная отягощенность по АЗ	183 (63,32,57,62–68,67)*	15 (10,2,6,18–16,25)

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

Таблица 2 – Факторы риска формирования бронхиальной астмы у детей, абсолютное число (% , 95% ДИ)

Фактор	Основная группа	Группа сравнения
Сезон рождения:		
Весна	67 (23,18, 18,68–28,39)	29 (19,73, 14,06–26,94)
Лето	77 (26,64, 21,87–32,03)	38 (25,85, 19,43–33,51)
Осень	89 (30,8, 27,75–36,35)	54 (36,73, 29,36–44,78)
Зима	56 (19,38, 15,22–24,34)	26 (17,69, 12,31–24,71)
Образование родителей на момент рождения ребенка:		
Мать		
Высшее	75 (42,86, 35,75–50,27)	58 (41,73, 33,86–50,04)
Среднее специальное	67 (38,28, 31,4–45,67)	72 (51,79, 43,56–59,94)
Среднее	33 (18,86, 13,72–25,34)*	9 (6,48, 3,29–12)
Отец		
Высшее	64 (41,29, 33,84–49,16)*	39 (27,86, 21,08–35,82)
Среднее специальное	76 (49,03, 41,28–56,83)	82 (58,57, 50,29–66,4)
Среднее	15 (9,68, 5,85–15,45)	19 (13,57, 8,78–20,31)
Возраст родителей на момент рождения ребенка до 20 лет:		
Мать	3(2,86, 0,62–8,42)	3(2,34, 0,5–6,97)
Отец	3(3,4, 0,75–9,96)	4(3,48, 1,07–8,89)
Возраст родителей на момент рождения ребенка старше 40 лет:		
Мать	1(0,95, 0,01–5,72)	2(1,56, 0,07–5,87)
Отец	5(5,58, 2,14–12,93)	12(10,43, 5,43–17,5)
Неполная семья	17(16,19, 10,26–24,5)	13(11,72, 5,91–16,72)
Беременность на фоне неблагоприятных факторов	108 (62,28, 56,57–67,78)	97 (65,99, 58–73,16)
Номер родов:		
Первые	125 (61,58, 54,73–68)	79 (53,74, 45,69–61,6)
Вторые	69 (33,99, 27,82–40,76)	59 (40,14, 32,56–48,22)
Третьи	9 (4,43, 2,33–8,33)	8 (5,44, 2,62–10,53)
Четвертые	–	1 (0,68, 0,01–4,14)
Кесарево сечение	34 (11,76, 8,51–16,02)	20 (13,61, 8,91–20,16)
Масса тела при рождении, г:		
<2700	21 (7,27, 4,75–10,9)	5 (3,4, 1,25–7,93)
>4000	20(6,92, 4,47–10,5)	7(4,76, 2,15–9,68)
Длина тела при рождении, см:		
<46	3 (1,04, 0,21–3,15)	–
>56	7 (2,42, 1,08–5,01)	1 (0,68, 0,01–4,14)
Искусственное вскармливание с рождения	69(23,87, 19,3–29,12)*	7 (4,76, 2,15–9,68)
Частые ОРИ до 2 лет (>6 раз)	78 (26,99, 22,19–32,39)*	21 (14,29, 9,47–20,92)
Аллергический ринит	245 (84,77, 80,16–88,48)	–
Атопический дерматит	68 (23,53, 18,99–28,76)*	16 (10,88, 6,72–17,04)
Аллергические реакции на прием лекарственных препаратов	43 (14,89, 11,21–19,47)*	3 (2,04, 0,43–6,1)
НДСТ	56(65,88, 55,29–75,1)*	17(17,39, 10,89–26,5)

Примечание: * p<0,05 – достоверность различий с группой сравнения.

Р.Н., 2013), было установлено, что в основной группе в сравнении с группой здоровых детей, количество детей с внешними фенотипическими признаками синдрома недифференцированной

дисплазии соединительной ткани превышало в 9 раз (рис. 2). Частота внешних фенотипических признаков НДСТ в сравниваемых группах представлена на рисунке 2 (представлены только име-

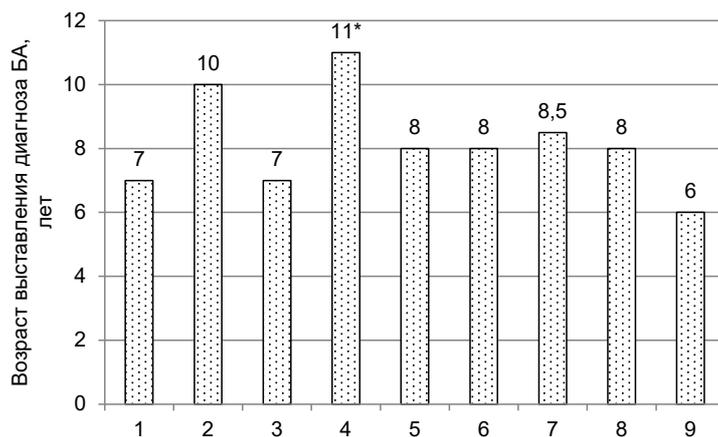


Рисунок 1 – Возраст выставления диагноза «бронхиальная астма» в зависимости от вида вскармливания и продолжительности грудного вскармливания: $p < 0,05$ между 4 и 1: 1 – искусственное вскармливание с рождения; грудное вскармливание: 2 – до 1 мес., 3 – до 3 мес., 4 – до 6 мес., 5 – до 9 мес., 6 – до 12 мес., 7 – до 18 мес., 8 – до 24 мес., 9 – >24 мес.

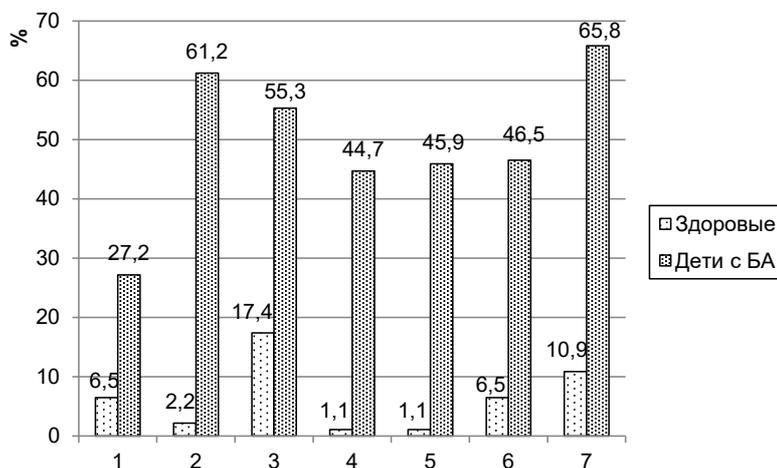


Рисунок 2 – Частота внешних фенотипических признаков НДСТ у детей: 1 – сколиотическая деформация позвоночника ($p=0,0002$), 2 – высокое арковидное небо ($p=0,0000$), 3 – нарушение роста и скученность зубов ($p=0,0000$), 4 – бархатистая кожа ($p=0,0000$), 5 – гипермобильность суставов ($p=0,0000$), 6 – плоскостопие ($p=0,0002$), 7 – голубые склеры ($p=0,0000$); p – уровень значимости при сравнении детей с БА и здоровых детей.

ющие уровень значимости $p < 0,05$).

Такие фенотипические признаки НДСТ, как арахнодактилия, воронкообразная грудная клетка, килевидная грудная клетка, ограничение выпрямления локтевого сустава, глубоко посаженные глаза, повышенная растяжимость кожи, атрофические стрии, деформация черепа, гипоплазия скуловых костей, присосшая мочка уха, гипотелоризм у здоровых детей нами выявлены не были. С разной частотой они встречались у детей с БА. Как уже упоминалось, в настоящее время БА и ожирение представляют отдельный фенотип БА, который характеризуется особенностями течения и лечения. Статистически значимых различий по частоте встречаемости вари-

антов оценки ИМТ, частоте ожирения в группе детей с БА и здоровых детей установлено не было ($p > 0,05$). Однако сопоставление по значениям ИМТ показало, что дети с БА имели более низкий медианный показатель ИМТ (16,0 [14; 19] $\text{кг}/\text{м}^2$) по сравнению с группой здоровых детей (19,36 [16,4; 22,01] $\text{кг}/\text{м}^2$), $p < 0,0025$. Для уточнения причин этого (особенность течения или фактор риска формирования БА или др.) целесообразно проведение дальнейших, более репрезентативных исследований.

Расчет отношения шансов позволил выделить наиболее значимые факторы риска формирования БА в исследуемой группе детей (табл. 3).

Таким образом, анализ результатов ис-

Таблица 3 – Факторы риска развития бронхиальной астмы у детей Гродненской области

Фактор	OR	ДИ	p
Отягощенный генеалогический анамнез:			
по БА	7,44	2,92–18,97	0,0000
по АЗ	5,96	3,78–9,4	0,0000
Образование родителей на момент рождения ребенка:			
Мать			
Среднее	3,36	1,55–7,28	0,002
Отец			
Высшее	1,82	1,42–,97	0,016
Искусственное вскармливание с рождения	6,27	2,8–14,04	0,0000
Частые ОРИ до 2 лет (>6 раз)	2,22	1,31–3,77	0,0025
Атопический дерматит	2,52	1,4–4,53	0,0013
Аллергические реакции на прием лекарственных препаратов	8,39	2,56–27,53	0,0000
Внешние фенотипические признаки НДСТ	9,17	4,55–18,49	0,0000

следования позволил установить факторы, способствующие формированию БА у детей. Полученные результаты можно использовать с целью профилактики и ранней диагностики БА у детей на территории Гродненской области.

Заключение

По результатам проведенного исследования установлены факторы, способствующие формированию БА у детей Гродненской области. Наиболее значимыми ($p < 0,05$) являются: отягощенный генеалогический анамнез по БА (OR–7,44, ДИ: 2,92–18,97) и АЗ (OR–5,96, ДИ: 3,78–9,4), образование родителей на момент рождения ребенка (мать – среднее OR–3,36, ДИ: 1,55–7,28; отец – высшее OR–1,82, ДИ: 1,42–2,97), искусственное вскармливание на первом году жизни (OR–6,27, ДИ: 2,8–14,04), частые ОРИ до 2 лет (OR–2,22, ДИ: 1,31–3,77), НДСТ (OR–9,17, ДИ: 4,55–18,49), атопический дерматит (OR–2,52, ДИ: 1,4–4,53), аллергические реакции при приеме лекарственных препаратов (OR–8,39, ДИ: 2,56–27,53), недифференцированная дисплазия соединительной ткани (OR–9,17, ДИ: 4,55–18,49).

Литература

1. International consensus on (ICON) pediatric asthma / N. G. Papadopoulos [et al.] // *Allergy*. – 2012 Aug. – Vol. 67, N 8. – P. 976–997.
2. Геппе, Н. А. Актуальность проблемы бронхиальной астмы у детей / Н. А. Геппе // *Педиатрия*. – 2012. – Т. 91, № 3. – С. 76–82.
3. Минеев, В. Н. Бронхиальная астма и ожирение: общие механизмы / В. Н. Минеев, Т. М. Лалаева, В. И. Трофимов // *Клин. медицина*. – 2012. – Т. 90, № 4. – С. 4–10.
4. Short and long term health effects of parental tobacco smoking

during pregnancy and lactation: a descriptive review / G. Banderali [et al.] // *J. Transl. Med.* – 2015 Oct. – Vol. 13. – P. 327.

5. Prenatal and passive smoke exposure and incidence of asthma and wheeze: systematic review and meta-analysis / H. Burke [et al.] // *Pediatrics*. – 2012 Apr. – Vol. 129, N 4. – P. 735–744.
6. Мачарадзе, Д. Ш. Астма и вирусные инфекции у детей / Д. Ш. Мачарадзе // *Вопр. современ. педиатрии*. – 2014. – Т. 13, № 1. – С. 124–128.
7. Хоха, Р. Н. Связь загрязнения атмосферного воздуха и аллергические заболевания у детей / Р. Н. Хоха, Н. С. Парамонова // *Педиатрия. Восточ. Европа*. – 2016. – № 2. – С. 231–238.
8. Прогнозирование риска формирования бронхиальной астмы у детей в возрасте 5-ти лет и младше / О. Д. Добрынина [и др.] // *Медицина*. – 2017. – № 3. – С. 23–37.
9. Юрова, И. Ю. Особенности раннего неонатального периода у недоношенных детей и развитие бронхиальной астмы в дальнейшем / И. Ю. Юрова, О. Н. Красноруцкая, Д. Ю. Бутримов // *Вестн. новых мед. технологий*. – 2011. – Т. 18, № 2. – С. 327–329.
10. Вклад перинатальных факторов риска в формирование фенотипов бронхиальной астмы в детском возрасте / Л. А. Желенина [и др.] // *Педиатр*. – 2016. – Т. 7, № 2. – С. 47–56.
11. Global Strategy for Asthma Management and Prevention (2017 update) Electronic resource] Захарова, И. Н. Питание детей от 1 года до 3 лет / И. Н. Захарова, Ю. А. Дмитриева // *Рос. вестн. перинатологии и педиатрии*. – 2011. – Т. 56, № 2. – С. 106–113.
12. Израйлов, М. И. Факторы риска формирования и распространенность бронхиальной астмы у детей и подростков Дагестана / М. И. Израйлов, А. М. Алискандиев, Я. М. Яхьяев // *Рос. педиатр. журн.* – 2017. – Т. 20, № 6. – С. 334–339.
13. Association between parental socioeconomic position and prevalence of asthma, atopic eczema and hay fever in children / L. Hammer-Helmich [et al.] // *Scand. J. Public Health*. – 2014 Mar. – Vol. 42, N 2. – P. 120–127.
14. Gene-environment interaction in atopic diseases: a population-based twin study of early-life exposures / N. Kahr [et al.] // *Clin. Respir. J.* – 2015 Jan. – Vol. 9, N 1. – P. 79–86.

Поступила 28.06.2019 г.
Принята в печать 25.07.2019 г.

References

- Papadopoulos NG, Arakawa H, Carlsen KH, Custovic A, Gern J, Lemanske R, et al. International consensus on (ICON) pediatric asthma. *Allergy*. 2012 Aug;67(8):976-97. doi: 10.1111/j.1398-9995.2012.02865.x
- Geppel NA. Relevance of asthma in children. *Pediatr. 2012*;91(3):76-82. (In Russ.)
- Mineev VN, Lalaeva TM, Trofimov VI. Bronchial asthma and obesity: general mechanisms. *Klin Meditsina*. 2012;90(4):4-10. (In Russ.)
- Banderali G, Martelli A, Landi M, Moretti F, Betti F, Radaelli G, et al. Short and long term health effects of parental tobacco smoking during pregnancy and lactation: a descriptive review. *J Transl Med*. 2015 Oct;13:327. doi: 10.1186/s12967-015-0690-y
- Burke H, Leonardi-Bee J, Hashim A, Pine-Abata H, Chen Y, Cook DG, et al. Prenatal and passive smoke exposure and incidence of asthma and wheeze: systematic review and meta-analysis. *Pediatrics*. 2012 Apr;129(4):735-44. doi: 10.1542/peds.2011-2196
- Macharadze DSh. Asthma and viral infections in children. *Vopr Sovremen Pediatr*. 2014;13(1):124-8. (In Russ.)
- Khokha RN, Paramonova NS. Relationship between air pollution and allergic diseases in children. *Pediatr. Vostochn Evropa*. 2016;(2):231-8. (In Russ.)
- Dobrynina OD, Meshcheryakov VV, Pavlov SI, Mikshina VS. Predicting the risk of bronchial asthma in children aged 5 and under. *Meditsina*. 2017;(3):23-37. (In Russ.)
- Yurova IYu, Krasnorutskaya ON, Bugrimov DYu. Peculiarities of the early neonatal period in premature infants and further development of bronchial asthma. *Vestn Novykh Med Tekhnologii*. 2011;18(2):327-9. (In Russ.)
- Zhelenina LA, Galustyan AN, Platonova NB, Kuropatenko MV. The contribution of perinatal risk factors to the formation of bronchial asthma phenotypes in childhood. *Pediatr*. 2016;7(2):47-56. (In Russ.)
- Global Strategy for Asthma Management and Prevention (2017 update) Electronic resource [Zakharova IN, Dmitrieva YuA. Nutrition of children from 1 to 3 years old. *Ros Vestn Perinatologii Pediatr*. 2011;56(2):106-13. (In Russ.)
- Izrailov MI, Aliskandiev AM, Yakh'yaev YaM. Risk factors for the formation and prevalence of asthma in children and adolescents in Dagestan. *Ros Pediatr Zhurn*. 2017;20(6):334-9. (In Russ.)
- Hammer-Helmich L, Linneberg A, Thomsen SF, Glümer C. Association between parental socioeconomic position and prevalence of asthma, atopic eczema and hay fever in children. *Scand J Public Health*. 2014 Mar;42(2):120-7. doi: 10.1177/1403494813505727
- Kahr N, Naeser V, Stensballe LG, Kyvik KO, Skytthe A, Backer V, et al. Gene-environment interaction in atopic diseases: a population-based twin study of early-life exposures. *Clin Respir J*. 2015 Jan;9(1):79-86. doi: 10.1111/crj.12110

Submitted 28.06.2019

Accepted 25.07.2019

Сведения об авторах:

Хоха Р.Н. – к.м.н., доцент 2-й кафедры детских болезней, Гродненский государственный медицинский университет.

Information about authors:

Khokha R.N. – Candidate of Medical Sciences, associate professor of the Chair of Childhood Diseases No.2, Grodno State Medical University.

Адрес для корреспонденции: Республика Беларусь, 230009, г. Гродно, ул. Горького, 80, Гродненский государственный медицинский университет, 2-я кафедра детских болезней. E-mail: raisa_khokha@mail.ru – Хоха Раиса Николаевна.

Correspondence address: Republic of Belarus, 230009, Grodno, 80, Gorky str., Grodno State Medical University, Chair of Childhood Diseases No.2. E-mail: raisa_khokha@mail.ru – Raisa N. Khokha.

ИЗМЕНЕНИЕ ЭКСПРЕССИИ МАРКЕРОВ В ТКАНИ ГЛИОМЫ КРЫС ПРИ АСКАРИДОЗЕ

ПОБЯРЖИН В.В.

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

Вестник ВГМУ. – 2019. – Том 18, №4. – С. 74-80.

CHANGES IN THE EXPRESSION OF MARKERS IN THE GLIOMA TISSUE OF RATS WITH ASCARIASIS

PABIARZHYN V.V.

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

Vestnik VG MU. 2019;18(4):74-80.

Резюме.

Цель исследования – изучить воздействие инвазии аскаридами в дозе 40 яиц *Ascaris suum* на 1 грамм массы тела животного на экспрессию глиомных маркеров в эксперименте в зависимости от сроков наблюдения.

Материал и методы. Эксперимент проводился на самках крыс линии Wistar и состоял из 2 серий. Подопытных животных после моделирования опухоли крысиной глиомы C6 *in situ* разделяли на 8 групп по 10 особей в каждой. Первая серия эксперимента включала животных 1-4 групп, у которых забирали материал на 14-й, 21-й, 28-й, 35-й дни развития опухоли соответственно для получения результатов в «чистой» опухоли крысиной глиомы C6 *in situ*. Ко второй серии относились животные 5-8 групп, исследование материала которых проводилось с целью оценки влияния на исследуемые показатели инвазии аскаридами в зависимости от времени с начала заражения. Материал всех групп животных (опухоль, печень, легкие, головной мозг) использовали для макроскопического, гистологического и иммуногистохимического анализов с целью определения glial fibrillary acidic protein (GFAP), S 100, маркера пролиферативной активности Ki-67.

Результаты. Выявлено, что инвазия *A. suum* в дозе 40 яиц на 1 грамм массы тела животного повышает экспрессию GFAP в биоптатах опухолевой ткани крысиной глиомы C6 *in situ* к 7-му дню развития инвазии в 2,16 раза; экспрессию S 100 к 7-му дню развития инвазии в 2,53 раза, к 14-му дню после заражения – в 2,05 раза; индекс пролиферативной активности Ki 67 к 7-му дню развития инвазии в 2,28 раза, к 14-му дню после заражения – в 2,22 раза.

Заключение. Полученные данные показывают, что инвазия аскаридами в дозе 40 яиц на 1 грамм массы животного повышает экспрессию GFAP, S 100, а также маркера пролиферативной активности Ki-67 в тканях крысиной глиомы C6 *in situ* в период высокой биологической активности паразита.

Ключевые слова: крыса, глиома, иммуногистохимические маркеры, GFAP, S 100, Ki-67, аскаридоз.

Abstract.

Objectives. To study the effect of *Ascaris suum* invasion in the dose of 40 *Ascaris suum* eggs per gram of animal body weight on the expression of glioma markers in the experiment, depending on the observation period.

Material and methods. The experiment was carried out on female Wistar rats and consisted of 2 experimental series. Experimental animals after modelling the tumor of rat C6 glioma *in situ* were divided into 8 groups of 10 animals each. The first series of the experiment included animals of groups 1-4 from which the material was taken on the 14th, 21st, 28th, 35th days of tumor development, respectively, to obtain the results in «clean» tumor of rat C6 glioma *in situ*. The second series included animals of groups 5-8, the study of their material was carried out to assess the impact of *Ascaris suum* invasion on the studied parameters depending on the time from the beginning of infection. The material of all groups of animals (tumor, the liver, the lungs, the brain) was used for macroscopic, histological, and immunohistochemical analyses with the purpose of determining glial fibrillary acid protein (GFAP), S 100, proliferative activity marker Ki-67.

Results. It has been revealed that *A. suum* invasion in the dose of 40 eggs per gram of animal body weight 2.16 times

increases GFAP expression in the biopsy specimens of the tumor tissue of rat C6 glioma in situ by the 7th day of invasion development; the expression of S 100 by the 7th day of invasion development – 2.53 times, by the 14th day after infection – 2.05 times; the proliferative activity index Ki 67 by the 7th day of invasion development – 2.28 times, by the 14th day after infection – 2.22 times.

Conclusions. The obtained data show that *Ascaris* invasion in the dose of 40 eggs per 1 gram of animal body mass increases the expression of GFAP, S 100 and proliferative activity marker Ki-67 in the tissues of rat C6 glioma in situ during the period of high biological activity of the parasite.

Key words: rat, glioma, immunohistochemical markers, GFAP, S 100, Ki-67, ascariasis.

По различным статистическим данным в последнее время отмечается рост заболеваемости гельминтозами [1, 2]. Одним из наиболее распространенных гельминтозов является аскаридоз. Каждый четвертый человек на земном шаре заражен аскаридами [2, 3].

Аскаридоз – заболевание многоликое. Для него характерны наличие аллергической реакции с лихорадкой, кожных высыпаний, эозинофильных инфильтратов в легких, гиперэозинофилии крови, боли в животе и диспепсические расстройства [4-6]. Кроме того, как чужеродный агент, выделяющий метаболиты, аскарида влияет на организм на клеточном и молекулярно-генетическом уровнях, нарушая апоптоз, вызывая генетические изменения наследственного материала в антенатальном и постнатальном периоде развития организма [7-9]. Такие изменения могут стать пусковым механизмом к развитию или усилению канцерогенных процессов. Согласно одной из теорий канцерогенеза, агрессивные вещества биологической природы являются значимым фактором в бластомогенных процессах [6, 9, 10].

Цель исследования – изучить воздействие инвазии аскаридами в дозе 40 яиц *Ascaris suum* на 1 грамм массы тела животного на экспрессию глиомных маркеров в эксперименте в зависимости от сроков наблюдения.

Материал и методы

В эксперименте использовали 80 самок крыс линии Wistar массой 180-200 г, которые в течение двух недель до начала проходили карантин. Все манипуляции с животными проводились в соответствии с рекомендациями Конвенции Совета Европы по охране позвоночных животных, используемых в экспериментальных и других научных целях (European Convention for the Protection of Vertebrate Animals for Experimental and Other Scientific Purposes: Strasbourg, Council of Europe, 51 pp; 18.03.1986), Директивой Совета ЕЭС от

24.11.1986 (Council Directive on the Approximation of Laws, Regulations and Administrative Provisions of the Member States Regarding the Protection of Animal Used for Experimental and Other Scientific Purposes), рекомендациями FELASA Working Group Report (1994- 1996), ТКП 125-2008, методическими указаниями «Положение о порядке использования лабораторных животных в научно-исследовательских работах и педагогическом процессе УО «Витебский государственный медицинский университет» и мерами по реализации требований биомедицинской этики», 2010.

Подопытных животных разделяли на 8 групп по 10 особей в каждой для проведения 2 серий эксперимента. Самкам крыс всех групп для моделирования опухоли *in situ* вводили опухолевые клетки крысиной глиомы C6 во внутреннюю область бедра в концентрации 10×10^6 подкожно. В другое бедро проводилась инъекция дексаметазона в дозировке 0,001 мл (4,0 мг/мл) на 1 грамм массы тела животного. Инъекцию дексаметазона выполняли ежедневно в течение 7 дней после перевивки, а с 8 дня – с кратностью через сутки в течение 14 дней.

Первая серия эксперимента включала животных первой, второй, третьей, четвертой групп животных, у которых забирали материал на 14-й, 21-й, 28-й, 35-й дни развития опухоли соответственно для получения результатов в «чистой» опухоли крысиной глиомы C6 *in situ*. Материал (опухоль, печень, легкие, головной мозг) использовали для макроскопического, гистологического исследования и иммуногистохимического анализа экспрессии основных глиомных маркеров: glial fibrillary acidic protein (GFAP), S 100, а также оценки маркера пролиферативной активности Ki-67 [11].

Ко второй серии эксперимента относились животные пятой, шестой, седьмой и восьмой групп, исследование материала которых проводилось с целью оценки влияния аскарид на изменение экспрессии иммуногистохимических

маркёров GFAP, S 100, Ki 67 в тканях крысиной глиомы C6 in situ. Заражение животных второй серии проводилось перорально в дозе 40 яиц *A. suum* на 1 грамм массы тела животного на 7-й день после введения опухолевых клеток C6. Таким образом, 7-й день после заражения соответствовал 14-му дню развития опухоли, 14-й день после инвазии – 21-му дню развития опухоли, 21-й после заражения – 28-му дню развития глиомы, 28-й – 35-му дню развития опухоли.

Инвазионные яйца аскарид получали по методике В.Я. Бекиша [12].

Материал, полученный в двух сериях эксперимента, фиксировали в течение 24 часов в забуференном формалине, после чего осуществляли заливку материала в парафин [11, 13]. Затем готовили гистологические препараты для обзорного изучения, которые окрашивали гематоксилин-эозином и заключали срезы в полистирол [11, 13].

Серийные парафиновые срезы для оценки ИГХ-реакции готовили на стеклах, обработанных поли-L-лизинем, толщиной 5–7 мкм с помощью микротомы Leica RM 2125 RT (Германия). Депарафинирование и обезвоживание осуществляли ксилолом и этанолом. Предобработку срезов для демаскировки антигенов осуществляли демаскировочным буфером (Wuhan Elabscience Biotechnology Incorporated Company). Иммуногистохимическую реакцию в готовом материале к рецепторам GFAP (E-AB-10345), S100 (E-AB-32841), Ki-67 (E-AB-22027) проводили в соответствии с инструкциями фирмы-производителя и системы визуализации 2-step plus Poly-HRP Anti Rabbit/Mouse IgG Detection System (with DAB Solution, Wuhan Elabscience Biotechnology Incorporated Company, Китай, E-IR-R213).

Результат ИГХ-окрашивания оценивали с применением светового микроскопа Leica DM 2500 в 1000 клетках каждого среза. Для всех маркеров учитывали локализацию окрашивания в клетке (ядро, цитоплазма и/или мембрана), интенсивность окрашивания (в области с максимальной экспрессией) и процент окрашенных клеток [11]. Результат считали отрицательным при отсутствии цитоплазматического окрашивания или при окрашивании менее 10% клеток; опухоль оценивали в 1 балл (1+) при окрашивании цитоплазмы от 10 до 25% клеток; в 2 балла (2+) – при окрашивании цитоплазмы от 26 до 50% клеток; в 3 балла (3+) – при окрашивании цитоплазмы более чем у 50% клеток (GFAP, S 100).

Пролиферативную активность опухоли (Ki-67) оценивали как процент положительных ядер в клетках опухоли. Результат считали отрицательным, если в ткани отсутствует ядерная экспрессия с антителами или количество окрашенных ядер менее 10%; положительной – при окраске более 10% опухолевых клеток, оцениваемых в области максимальной экспрессии маркера; опухолью с высокой пролиферативной активностью считали при экспрессии Ki-67 в более чем 40% клеток; низкая пролиферативная активность была характерна при экспрессии Ki-67 в менее 40% клеток [11].

Immune reactivity (IRS) рассчитывали при суммировании баллов доли окрашенных клеток и интенсивности их окраски. Опухоль считали позитивной при суммарном балле более или равном трем [11].

Различия между группами оценивали по критерию Манна–Уитни (Mann–Whitney, U-test) и считали статистически значимыми при $p < 0,05$. Обработку данных проводили с помощью программы Statistica 10.

Результаты

Оценку результатов первой серии эксперимента (забор опухоли на 14-й, 21-й, 28-й, 35-й дни) показала, что новообразования расположены в правой паховой области. Они имели округлую, бугристую форму, размер от 3 до 5 см³, плотную, упругую консистенцию, розово-красный цвет, хорошо видимые сосуды, легко отделяемые от окружающей ткани. При вскрытии опухоли имели несколько полостей, заполненных прозрачной красновато-желтой жидкостью; поверхность разреза – влажная, блестящая, шероховатая с полнокровными сосудами.

Гистологически опухолевый материал (14-й, 21-й, 28-й, 35-й дни забора) характеризовался следующим образом: по краю гистосреза волокна ткани представлены в виде отдельных фрагментов, которые сдавлены в результате пролиферации опухолевых клеток, формирующих комплексы с очагами некроза в глубине. Опухолевые клетки располагались вокруг некротических очагов в виде частокла. Наблюдалась высокая степень васкуляризации опухолевых очагов; отдельные сосуды были сужены из-за внутрисосудистой пролиферации эндотелиальных клеток. Опухоль характеризовалась полиморфизмом, состояла из мелких клеток с гиперхроматическими

ядрами и частыми митозами. Гистологическое заключение: глиома.

Макроскопический и гистологический анализ печени, легких, головного мозга, забранных на 14-й, 21-й, 28-й, 35-й дни развития глиомы крыс С6 *in situ* первой серии эксперимента, изменений не выявил.

Иммуногистохимические исследования проводили только в опухолевых образцах, так как морфологических и гистологических изменений в печени, легких, головном мозге животных первой серии эксперимента не обнаружено.

При оценке результатов тканей глиом, полученных на 14-й, 21-й, 28-й, 35-й развития опухоли от самок крыс линии Wistar первой серии опытов, выявлено следующее: экспрессия GFAP к 14-му дню составила 1+ (12%; 95% ДИ : 108,96-144,63; IRS=4); к 21-му дню – 1+ (17%; 95% ДИ : 137,04-206,15; IRS=4); к 28-му дню – 1+ (12%; 95% ДИ : 112,81-134,58; IRS=4); на 35-й день – 1+ (10%; 95% ДИ : 100,48-114,71; IRS=4).

Экспрессия S 100 в этих же образцах к 14-му дню находилась на уровне 1+ (15%; 95 % ДИ : 128,57-173,22; IRS=4); к 21-му дню – 1+ (17%; 95% ДИ : 153,51-191,51; IRS=4); к 28-му дню – 1+ (13%; 95% ДИ : 119,8-142,96; IRS=4); на 35-й день – 1+ (10%; 95% ДИ : 100,13-106,46; IRS=4).

Пролиферативная активность опухоли (Ki-67) была оценена следующим образом: 14-й день развития – 35% (95% ДИ : 321,66-391,33); к 21-му дню – 36% (95% ДИ : 332,76-389,23); к 28-му дню – 15% (95% ДИ : 142,28-155,71); на 35-й день – 10% (95% ДИ : 100,45-104,14).

Анализ данных самок второй серии после оценки материала на всех сроках развития инвазии показал, что гистологически глиома не отличалась от опухоли, полученной в первой серии опытов.

Гистологический анализ легких показал неравномерное кровенаполнение сосудов с преобладанием венозно-капиллярного полнокровия, наличие эритроцитов. Межальвеолярные перегородки были утолщены в результате клеточной инфильтрации. Стенки ряда сосудов были утолщены, разрыхлены, разволокнены за счёт отёка, варьирующего от слабого до выраженного. Вокруг отдельных сосудов обнаружены слабо выраженные периваскулярные полиморфноклеточные инфильтраты. Воздушность лёгочной ткани на всей площади срезов была снижена: на фоне слабо выраженного альвеолярного отёка более 1/3 просветов альвеол с наличием небольших скоплений слушенных альвеоцитов, немногочис-

ленных лимфоцитов. Представлены небольшие бронхи со слабо выраженными отёком и умеренно выраженной лейкоцитарной инфильтрацией, отдельные бронхи резко сужены из-за перибронхиальной инфильтрации полиморфными клетками. Просветы бронхов содержат слущенный эпителий в виде отдельных клеток.

При анализе гистосрезов печени выявлено, что в срезах печени кровенаполнение синусоидных капилляров варьирует от слабого и слабоумеренного кровенаполнения их до очагового полнокровия, расширение пространства Диссе. Очаговое полнокровие центральных вен (эритроцитозы, слажд-феномен). Балочно-радиальное строение долек начинает стираться на фоне умеренно выраженной крупнокапельной жировой дистрофии в центре долек, остальные гепатоциты в состоянии выраженной зернистой и гидропической дистрофий. Портальные тракты обычных размеров, в строме наблюдалась слабая лимфогистиоцитарная инфильтрация и слабо выраженный склероз, обнаружены единичные мелкие лимфоцитарные инфильтраты. Капсула печени не изменена. Наблюдался отек и умеренно выраженные крупнокапельная, зернистая и гидропическая дистрофии гепатоцитов, слабая картина персистирующего гепатита.

Анализ гистологических срезов головного мозга патологических изменений не выявил.

Так как в образцах органов (печень, легкие, головной мозг) не было обнаружено соответствующего материала для проведения иммуногистохимических исследований, определение ИГХ-маркеров и индекса пролиферативной активности проводили в опухоли и сравнивали с первой группой первой серии эксперимента.

Экспрессия GFAP в биоптатах опухолевой ткани к 7-му дню развития инвазии составила 2+ (26%; 95% ДИ : 229,73-296,46; IRS=6); к 14-му дню – 1+ (18%; 95% ДИ : 154,18-207,44; IRS=4); к 21-му дню – 1+ (16%; 95% ДИ : 137,41-181,18; IRS=4); на 28-й день – 1+ (11%; 95% ДИ : 102,86-112,73; IRS=4).

Экспрессия S 100 в этих же образцах к 7-му дню после заражения *A. suum* находилась на уровне 2+ (38%; 95% ДИ : 334,06-425,13; IRS=6); к 14-му дню – 2+ (35%; 95% ДИ : 292,92-414,30; IRS=4); к 21-му дню – 1+ (15%; 95% ДИ : 130,93-165,66; IRS=4); на 28-й день – 1+ (11%; 95% ДИ : 109,65-118,34; IRS=4).

Пролиферативная активность опухоли (Ki-67) на 7-й день развития инвазии составила 80%

(95% ДИ : 735,67-860,72); к 14-му дню – 80% (95% ДИ : 719,60-867,79); к 21-му дню – 14% (95% ДИ : 136,65-148,34); на 28-й день – 10% (95% ДИ : 100,84-116,35).

Обсуждение

В литературе встречаются публикации, посвященные исследованию взаимосвязи гельминтозов и злокачественных новообразований [14, 15]. В основном речь идет об описторхозной и шистосомозных инвазиях [17-19]. Данных о влиянии аскаридоза на возникновение и течение онкологических заболеваний в литературе практически не встречается. Однако имеются многочисленные сведения о влиянии аскарид на организм млекопитающих на молекулярно-генетическом уровне (мутagenное, цитотоксическое, генотоксическое и эмбриотоксическое действие), что позволяет предположить связь этого гельминтоза с развитием заболеваний, в основе развития которых лежат эти механизмы [21-24]. Новые методы, внедренные в последние годы в практику научных исследований, позволяют раскрыть более тонкие звенья патогенеза различных заболеваний и их взаимосвязей. Впервые на разработанной нами экспериментальной модели опухоли крысиной глиомы С6 *in situ* было показано, что инвазия А. suum 40 яиц на 1 грамм массы тела животного повышает экспрессию GFAP в биоптатах опухолевой ткани крысиной глиомы С6 *in situ* к 7-му дню развития инвазии в 2,16 раза; экспрессию S 100 к 7-му дню развития инвазии в 2,53 раза, к 14-му дню после заражения – в 2,05 раза; индекс пролиферативной активности Ki 67 к 7-му дню развития инвазии в 2,28 раза, к 14-му дню после заражения – в 2,22 раза.

Заключение

Полученные данные позволяют предположить, что инвазия аскаридами в дозе 40 яиц на 1 грамм массы животного повышает экспрессию GFAP (glial fibrillary acidic protein), S 100, а также маркера пролиферативной активности Ki-67) в тканях крысиной глиомы С6 *in situ* в период высокой биологической активности паразита.

Литература

1. Долбин, Д. А. Распространенность аскаридоза у человека, возрастная и демографическая динамика / Д. А. Долбин, М. Х. Лутфуллин // Учен. зап. Казан. гос. акад. ветеринар. медицины им. Н. Э. Баумана. – 2015. – Т. 222, № 2. – С. 83-85.
2. Тойгомбаева, В. С. Кишечные паразитарные заболевания населения Республики Кыргызстан / В. С. Тойгомбаева // Мед. паразитология. – 2009. – № 2. – С. 31–33.
3. Малютина, Т. А. Взаимоотношения в системе паразит – хозяин: биохимические и физиологические аспекты адаптации (ретроспективный обзор) / Т. А. Малютина // Рос. паразитол. журн. – 2008. - № 1. – С. 24-40.
4. Hopkin, J. Immune and genetic aspects of asthma allergy and parasitic worm infections evolutionary links / J. Hopkin // Parasite Immunol. – 2009 May. – Vol. 31, N 5. – P. 267-273.
5. Helminths: an unrecognised disease burden prevalent among migrants in the gastroenterology clinic / P. J. Smith [et al.] // Frontline Gastroenterol. – 2011 Apr. – Vol. 2, N 2. – P. 124–129.
6. Неспецифические проявления гельминтозов у детей / И. Б. Ершова [и др.] // Здоровье ребенка. – 2015. – № 8. – С. 45–50.
7. Лобода, В. Ф. Роль санитарно-гигиенического воспитания в развитии хронической патологии пищеварительной системы у детей / В. Ф. Лобода, К. Т. Глушко // Журн. Гродн. гос. мед. ун-та. – 2013. - № 3. - С. 43-45.
8. Ермоленко, А. Е. Этиологическая классификация опухолей и механизмы канцерогенеза [Электронный ресурс] / А. Е. Ермоленко // Мат. морфология. Электрон. мат. и медико-биол. журн. - 2012. – Т. 11, вып. 2. – Режим доступа: <http://sgma.alpha-design.ru/MMORPH/N-34.html/ermolenko/ermolenko.htm>. – Дата доступа: 19.08.2019.
9. Аничков, Н. М. Учение об апоптозе на современном этапе / Н. М. Аничков // Уч. зап. СПбГМУ им. акад. И. П. Павлова. - 1999. - Вып. 4. - С. 31-40.
10. Butel, J. S. Viral carcinogenesis: revelation of molecular mechanisms and etiology of human disease / J. S. Butel // Carcinogenesis. – 2000 Mar. - Vol. 21, N 3. - P. 405-426.
11. Иммуногистохимические методы исследования новообразований различного генеза : инструкция по применению № 160-1110 : утв. М-вом здравоохранения Респ. Беларусь 11.02.2011 г. / Э. А. Надыров [и др.]. – Гомель, 2011. – 24 с.
12. Бекиш, В. Я. Методика получения инвазионных яиц аскарид / В. Я. Бекиш // Пятый Республиканский съезд специалистов лабораторной диагностики Беларуси : материалы съезда. – Минск, 1997. – С. 140-141.
13. Сапожников, А. Г. Гистологическая и микроскопическая техника : руководство / А. Г. Сапожников, А. Е. Доросевич. – Смоленск : САУ, 2000. – 480 с.
14. Controversies and challenges in research on urogenital schistosomiasis-associated bladder cancer / J. Honeycutt [et al.] // Trends Parasitol. – 2014 Jul. – Vol. 30, N 7. – P. 324–332.
15. Ploeg, M. The present and future burden of urinary bladder cancer in the world / M. Ploeg, K. K. Aben, L. A. Kiemeny // World. J. Urol. – 2009 Jun. – Vol. 27, N 3. – P. 289–293.
16. Salem, H. K. Changing patterns (age, incidence, and pathologic types) of schistosoma-associated bladder cancer in Egypt in the past decade / H. K. Salem, S. Mahfouz // Urology. – 2012 Feb. – Vol. 79, N 2. – P. 379–383.
17. Shokeir, A. A. Squamous cell carcinoma of the bladder: pathology, diagnosis and treatment / A. A. Shokeir // BJU Int. – 2004 Jan. – Vol. 93, N 2. – P. 216–220.
18. Višnjar, T. Hyperplasia as a mechanism for rapid resealing urothelial injuries and maintaining high transepithelial

- resistance / T. Višnar, P. Kocbek, M. E. Kreft // *Histochem. Cell Biol.* – 2012 Feb. – Vol. 137, N 2. – P. 177–186.
19. Buisson, Y. Control of *Opisthorchis viverrini* infection for cholangiocarcinoma prevention / Y. Buisson // *Bull. Soc. Pathol. Exot.* – 2017 Feb. – Vol. 110, N 1. – P. 61–67.
 20. Infection with the carcinogenic human liver fluke, *Opisthorchis viverrini* / J. M. Smout [et al.] // *Mol. Biosyst.* – 2011 May. – Vol. 7, N 5. – P. 1367–1375.
 21. Бекиш, О.-Я. Л. Мутагенный эффект метаболитов мигрирующих личинок аскарид (*Ascaris suum*) / О.-Я. Л. Бекиш, Вл. Я. Бекиш // *Вестн. Нац. акад. наук Беларуси. Сер. биол. наук.* – 2000. – № 2. – С. 109–113.
 22. Зорина, В. В. Воздействие мигрирующих личинок аскарид на геном хозяина при беременности / В. В. Зорина, О.-Я. Л. Бекиш // *Вестн. ВГМУ.* – 2009. – Т. 8, № 2. – С. 120–127.
 23. Стибель, В. В. Влияние прижизненных выделений нематод на геном белых крыс / В. В. Стибель, Н. Н. Данко, О. А. Сварчевский // *Теория и практика паразитар. болезней животных.* – 2010. – № 11. – С. 463–466.
 24. Blaszkowska, J. Disturbance of mouse pregnancy after injection of *Ascaris* homogenate during early organogenesis / J. Blaszkowska // *Wiad. Parazytol.* – 2000. – Vol. 46, N 3. – P. 369–378.

Поступила 28.05.2019 г.

Принята в печать 25.07.2019 г.

References

1. Dolbin DA, Lutfullin MKh. The prevalence of ascariidosis in humans, age and demographic dynamics. *Uchen Zap Kazan Gos Akad Veterinar Meditsiny im NE Baumana.* 2015;222(2):83-5. (In Russ.)
2. Toygombaeva VS. Intestinal parasitic diseases of the population of the Republic of Kyrgyzstan. *Med Parazitologii.* 2009;(2):31-3. (In Russ.)
3. Maljutina TA. Relationships in the parasite-host system: biochemical and physiological aspects of adaptation (retrospective review). *Ros Parazitol Zhurn.* 2008;(1):24-40. (In Russ.)
4. Hopkin J. Immune and genetic aspects of asthma allergy and parasitic worm infections evolutionary links. *Parasite Immunol.* 2009 May;31(5):267-73. doi: 10.1111/j.1365-3024.2009.01104.x
5. Smith PJ, Theis B, McCartney S, Brown M. Helminths: an unrecognised disease burden prevalent among migrants in the gastroenterology clinic. *Frontline Gastroenterol.* 2011 Apr; 2(2):124-9. doi: 10.1136/fg.2010.003392
6. Ershova IB, Mochalova AA, Lokmatova IA, Manashova MG, Petrenko OV. Nonspecific manifestations of helminthiasis in children. *Zdorov'e Rebenka.* 2015;(8):45-50. (In Russ.)
7. Loboda VF, Glushko KT. The role of sanitary-hygienic education in the development of chronic digestive system pathology in children. *Zhurn Grodn Gos Med Un-ta.* 2013;(3):43-5. (In Russ.)
8. Ermolenko AE. Etiological classification of tumors and carcinogenesis mechanisms [Elektronnyi resurs]. *Mat Morfologiya Elektron Mat Mediko-biol Zhurn.* 2012;11(vyp 2). Rezhim dostupa: <http://sgma.alpha-design.ru/MMORPH/N-34.html/ermolenko/ermolenko.htm>. Data dostupa: 19.08.2019. (In Russ.)
9. Anichkov NM. The doctrine of apoptosis at the present stage. *Uch Zap SPbGMU im akad IP Pavlova.* 1999;(vyp 4):31-40. (In Russ.)
10. Butel JS. Viral carcinogenesis: revelation of molecular mechanisms and etiology of human disease. *Carcinogenesis.* 2000 Mar;21(3):405-26.
11. Nadyrov EA, Rogov YuI, Dubrovskiy ACh, Voropaev EV, Achinovich SL, Krylov AYu, i dr. Immunohistochemical methods for the study of neoplasms of various origins: instruktsiia po primeneniiu № 160-1110: utv M-vom zdravookhraneniia Resp Belarus' 11.02.2011 g. Gomel', RB; 2011. 24 p. (In Russ.)
12. Bekish VYa. Method for producing invasive *Ascaris* eggs. V: *Piatyi Respublikanskii s"ezd spetsialistov laboratornoi diagnostiki Belarusi: materialy s"ezda.* Minsk, RB; 1997. P. 140-1. (In Russ.)
13. Sapozhnikov AG, Dorosevich AE. Histological and microscopic technique: rukovodstvo. Smolensk, RF: SAU; 2000. 480 p. (In Russ.)
14. Honeycutt J, Hammam O, Fu CL, Hsieh MH. Controversies and challenges in research on urogenital schistosomiasis-associated bladder cancer. *Trends Parasitol.* 2014 Jul;30(7):324-32. doi: 10.1016/j.pt.2014.05.004
15. Ploeg M, Aben KK, Kiemeneij LA. The present and future burden of urinary bladder cancer in the world. *World J Urol.* 2009 Jun;27(3):289-93. doi: 10.1007/s00345-009-0383-3
16. Salem HK, Mahfouz S. Changing patterns (age, incidence, and pathologic types) of schistosoma-associated bladder cancer in Egypt in the past decade. *Urology.* 2012 Feb;79(2):379-83. doi: 10.1016/j.urology.2011.08.072
17. Shokeir AA. Squamous cell carcinoma of the bladder: pathology, diagnosis and treatment. *BJU Int.* 2004 Jan;93(2):216-20.
18. Višnar T, Kocbek P, Kreft ME. Hyperplasia as a mechanism for rapid resealing urothelial injuries and maintaining high transepithelial resistance. *Histochem Cell Biol.* 2012 Feb;137(2):177-86. doi: 10.1007/s00418-011-0893-0
19. Buisson Y. Control of *Opisthorchis viverrini* infection for cholangiocarcinoma prevention. *Bull Soc Pathol Exot.* 2017 Feb;110(1):61-67. doi: 10.1007/s13149-017-0544-8
20. Smout MJ, Sripa B, Laha T, Mulvenna J, Gasser RB, Young ND, et al. Infection with the carcinogenic human liver fluke, *Opisthorchis viverrini*. *Mol Biosyst.* 2011 May;7(5):1367-75. doi: 10.1039/c0mb00295j
21. Bekish O-YaL, Bekish VIYa. Mutagenic effect of metabolites of migratory *Ascaris* larvae (*Ascaris suum*). *Vesti Nats Akad Navuk Belarusi Ser Biial Navuk.* 2000;(2):109-13. (In Russ.)
22. Zorina VV, Bekish O-YaL. The effect of migratory *Ascaris* larvae on the host genome during pregnancy. *Vestn VGMU.* 2009;8(2):120-7. (In Russ.)
23. Stibel' VV, Danko NN, Svarchevskiy OA. The effect of intravital secretions of nematodes on the genome of white rats. *Teoriia Praktika Parazitar Boleznei Zhitvotnykh.* 2010;(11):463-6. (In Russ.)
24. Blaszkowsk, J. Disturbance of mouse pregnancy after injection of *Ascaris* homogenate during early organogenesis. *Wiad Parazytol.* 2000;46(3):369-78.

Submitted 28.05.2019

Accepted 25.07.2019

Сведения об авторах:

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

Information about authors:

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

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

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

УПОТРЕБЛЕНИЕ АЛКОГОЛЯ С ВРЕДНЫМИ ПОСЛЕДСТВИЯМИ ПОДРОСТКАМИ ЖЕНСКОГО ПОЛА: АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ ДИАГНОСТИКИ И ЛЕЧЕНИЯ

МУЖИЧЕНКО В.А., КИРПИЧЕНКО А.А.

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

Вестник ВГМУ. – 2019. – Том 18, №4. – С. 81-90.

HARMFUL CONSEQUENCES OF ALCOHOL USE BY FEMALE ADOLESCENTS: TOPICAL ISSUES OF DIAGNOSIS AND TREATMENT

MUZHICHENKA U.A., KIRPICHENKA A.A.

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

Vestnik VGMU. 2019;18(4):81-90.

Резюме.

Проведен анализ акцентуаций характера и сопряженных с ними личностных особенностей, факторов школьной тревожности и агрессии, оказывающих влияние на формирование расстройств, обусловленных употреблением алкоголя у девочек-подростков в возрасте 14-18 лет из Республики Беларусь. По результатам исследования определено, что наиболее актуальными факторами риска развития употребления алкоголя с вредными последствиями у подростков женского пола являются астено-невротический и шизоидный типы личностных акцентуаций, высокие уровни агрессии и школьной тревожности. На основе полученных данных была определена прогностическая модель факторов риска формирования расстройств вследствие употребления алкоголя в данной социально-демографической группе.

Результаты исследования стали основой для разработки метода лечения подростков женского пола с употреблением алкоголя с вредными последствиями, который имеет доказанную клиническую эффективность.

Ключевые слова: алкоголь, девочки-подростки, факторы риска, метод лечения употребления алкоголя с вредными последствиями.

Abstract.

The analysis of character accentuations and personal characteristics associated with them, factors of school anxiety and aggression that affect the development of disorders caused by alcohol use in adolescent girls at the age of 14-18 years from the Republic of Belarus has been made. According to the results of the study, it has been determined that the most relevant risk factors for the development of harmful consequences of alcohol use in female adolescents are astheno-neurotic and schizoid types of personal accentuation, high levels of aggression and school anxiety. On the basis of the data obtained a prognostic model of risk factors for the development of disorders due to alcohol use in this socio-demographic group has been worked out.

The results of the study served as a basis for the elaboration of a treatment method for female adolescents whose use of alcohol leads to harmful sequelae. Clinical efficacy of this method has already been proved.

Key words: alcohol, adolescent girls, risk factors, method of treatment of alcohol use with harmful consequences.

Проблема чрезмерного потребления алкоголя усугубляется ростом его популярности среди молодежи. Исследования Европейского регионального бюро ВОЗ показали, что злоупотре-

ребление алкоголем в подростковом возрасте обуславливает значительные негативные социальные, физические, психологические и неврологические последствия во взрослой жизни [1].

При этом вред от употребления алкоголя для молодых людей более чем в два раза выше, чем для других возрастных групп [2-4].

Доказано, что систематическое употребление алкоголя в молодом возрасте, в том числе среди женщин, является одним из предрасполагающих факторов развития алкогольной зависимости (АЗ) и характеризуется тенденцией к более раннему и быстрому её формированию, выраженному проявлению сопутствующих асоциальных действий, правонарушений, снижению социального статуса [5, 6]. У молодых женщин АЗ, помимо всего прочего, обуславливает нарушение репродуктивной функции [7].

В преддверии внедрения в клиническую практику Международной статистической классификации болезней и проблем, связанных со здоровьем, одиннадцатого пересмотра предметом оживленных научных споров являются вопросы дифференциальной диагностики наркологических расстройств. При этом позиции специалистов далеки от единодушия, а в спектре суждений все чаще встречается мнение о необходимости строгого соблюдения «синдромологической дисциплины», поскольку только клинические синдромы в их полном виде являются носителями диагностической специфичности, позволяющей четко верифицировать те или иные патологические состояния. Концептуально клинический синдром – это не набор признаков, а обоснованное сочетание симптомов, обусловленное определенным патогенетическим механизмом [8].

В контексте диагностики начальных проявлений АЗ стоит отметить, что современный методологический подход к изучению патологических состояний, обусловленных употреблением алкоголя, предусматривает понятие «чрезмерное употребление алкоголя», синонимами которого выступают термины злоупотребление (alcohol abuse или alcohol misuse), рискованное (at-risk alcohol use) и опасное употребление алкоголя (hazardous alcohol use), а также употребление с вредными последствиями (harmful drinking) [9, 10].

В Десятом пересмотре Международной статистической классификации болезней и проблем, связанных со здоровьем (МКБ-10) употребление алкоголя с вредными последствиями определяется как «состояние, при котором характер употребления алкоголя является причиной ущерба здоровью. Ущерб может быть физическим (например, гепатит после инъекции психоактивных средств) или психическим (например,

депрессивные расстройства, вторичные по отношению к тяжелому алкогольному опьянению). Употребление с вредными последствиями обычно, но не обязательно, имеет неблагоприятные социальные последствия, которых, однако, самих по себе недостаточно, чтобы оправдать диагноз употребления с вредными последствиями» [11].

Его аналогом в диагностическом руководстве DSM-IV является понятие «злоупотребление алкоголем» [12]. Среди диагностических критериев для постановки данного диагноза в DSM-IV превалируют именно социальные аспекты вреда от употребления алкоголя (неспособность выполнить важные ролевые обязательства на работе, по месту учебы или дома; проблемы с законом, связанные с алкоголем; социальные и межличностные проблемы, обусловленные или спровоцированные эффектами алкоголя) [12].

Критерии для постановки соответствующих диагнозов согласно МКБ-10 и DSM-IV приведены в таблице 1 [11, 12].

Следует отметить, что при достаточной четкости и лаконичности изложения диагностических критериев для постановки диагноза «Употребление алкоголя с вредными последствиями», рубрика F10.1 МКБ-10, на практике возможны затруднения при классификации данного состояния, прежде всего у лиц подросткового возраста. Это связано с трактовкой критерия А (табл. 1), а именно с выявлением и категорированием физических вредных изменений, вызванных употреблением алкоголя.

В докладе комитета экспертов ВОЗ по проблемам, связанным с потреблением алкоголя, отмечено, что состояния алкоголизации тесно ассоциированы с широким спектром болезней органов пищеварения (панкреатиты, панкреонекрозы и др.); органов дыхания (запущенные случаи пневмоний) и сердечно-сосудистой системы (кровоизлияния в органы на фоне гипертонических кризов, инфаркты миокарда, инсульты и др.) [13, 14]. Общеизвестен вклад алкоголя в развитие жировой дистрофии, гепатита и цирроза печени [15, 16]. Хроническая алкогольная интоксикация выступает причиной поражения мозга, развития алкогольной энцефалопатии, когнитивных нарушений различной степени выраженности [17-19]. В результате непосредственного токсического воздействия алкоголя на клетки поджелудочной железы, ингибирования секреции инсулина и повышение резистентности к нему алкоголь обладает диабетогенным эффектом [20, 21]. Алкоголь

Таблица 1 – Критерии для постановки диагноза заболеваний, обусловленных приемом алкоголя

Критерии	
МКБ-10 «Употребление алкоголя с вредными последствиями»	DSM-IV «Злоупотребление алкоголем»
<p>А. Должны иметься четкие данные, что употребление вещества обусловило (или в значительной мере способствовало) физические или психологические вредные изменения, включая нарушение суждений или дисфункциональное поведение, которое может привести к инвалидизации или неблагоприятно сказаться на межличностных отношениях.</p> <p>Б. Природа вредных изменений должна быть выявляемой (и описанной).</p> <p>В. Характер употребления сохранялся на протяжении, по меньшей мере, одного месяца или периодически повторялся в предыдущие 12 месяцев.</p> <p>Г. Расстройство не отвечает критериям любого другого психического или поведенческого расстройства, связанного с употреблением алкоголя в тот же период времени, за исключением острой интоксикации.</p>	<p>1. Дезадаптивный характер употребления алкоголя, приводящий к клинически значимым нарушениям или дистрессу, проявляющимся одним или более из нижеприведенных признаков, которые отмечаются в любое время в течение 12-месячного периода:</p> <ul style="list-style-type: none"> – повторяющееся употребление алкоголя, приводящее к неспособности выполнить важные ролевые обязательства на работе, по месту учебы или дома; – повторяющееся употребление алкоголя в ситуациях, когда это опасно для здоровья; – повторяющиеся проблемы с законом, связанные с алкоголем; – продолжение употребления алкоголя вопреки наличию постоянных или периодически возникающих социальных и межличностных проблем, обусловленных или спровоцированных эффектами алкоголя. <p>2. Симптомы никогда не удовлетворяли критериям зависимости от алкоголя.</p>

отнесен к группе агентов, обладающих канцерогенным действием, влияющим на развитие злокачественных образований печени, молочной железы, желудка, поджелудочной железы, толстого кишечника [22-26]. Алкоголь ассоциируется с развитием артериальной гипертензии, нарушениями сердечного ритма, поражениями миокарда, риском развития инсульта и заболеваний сердечно-сосудистой системы [27-30].

При этом в источниках литературы по вопросу исследования алкоголь обусловленных соматических заболеваний указано, что их развитие коррелирует с длительностью употребления алкоголя. Так, алкогольная кардиомиопатия (АКМП) формируется, если ежедневная доза алкоголя превышает 80 грамм на протяжении примерно 10 лет [31]. Признаки АКМП могут развиваться после ежедневного употребления 90 грамм алкоголя на протяжении 5 лет [32]. А такие патологические состояния, как алкогольный стеатоз или жировая дистрофия печени, являющиеся начальным этапом структурных изменений печени, вызываемых хронической алкогольной интоксикацией, а также алкогольный гепатит и цирроз печени развиваются у лиц с алкогольной зависимостью при стаже алкоголизации свыше 5 лет [33]. Вместе с тем, результаты исследований, посвященных тематике статистики и бремени

глобальных последствий употребления алкоголя во всем мире, прямо указывают на отсутствие безопасной дозы употребления алкоголя [34].

Вышеизложенное обуславливает определенные трудности при применении критерия «физический вред» при постановке диагноза «Употребление алкоголя с вредными последствиями» у подростков. В этой связи представляется целесообразным обратить внимание на феномен «психического вреда», под которым понимаются «психологические вредные изменения, включая нарушение суждений или дисфункциональное поведение» [11].

Несмотря на то, что история вопроса изучения нарушенного поведения насчитывает не один десяток лет и не одну сотню научных публикаций, ни у зарубежных, ни у отечественных авторов нет единой точки зрения на сущность феномена «дисфункциональное поведение».

В связи с тем, что на сегодняшний день не существует четко установленного определения поведенческой нормы, множественность систем социальных ценностей (норм, стереотипов поведения и т.п.) приводит к существованию различных равноправных представлений о том, какое именно поведение является дисфункциональным.

Границы данного поведения весьма условны, поскольку оно ассоциируется с широким

спектром несоответствия человеческих поступков, действий распространенным в обществе или отдельных социальных группах правилам поведения, ожиданиям, установкам и ценностям.

Авторы разделяют широко представленную в литературе точку зрения о том, что дисфункциональное поведение следует рассматривать как разновидность отклоняющегося (девиантного) поведения, под которым понимается система поступков или отдельные поступки, противоречащие принятым в обществе правовым и нравственным нормам и проявляющиеся в несбалансированности психических процессов, неадаптивности, социальной дезадаптации. Подобное поведение наносит реальный ущерб самой личности или другим людям, характеризуется нарушением процесса самоактуализации и уклонением от нравственного и эстетического контроля над собственными действиями [35-39].

Принимая во внимание идентичность понятий «употребление алкоголя с вредными последствиями» и «начальная стадия зависимости от алкоголя» [40] с учетом того, что ранние признаки зависимости являются первично психосоциальными и поведенческими, для уточнения и детализации понятия «дисфункциональное поведение» критерия А (табл. 1), необходимого для постановки диагноза, из рубрики F10.1 МКБ-10 целесообразно использовать социальные признаки, заслуживающие внимания при выявлении злоупотребления алкоголем, изложенные в таблице 2 [41].

При использовании изложенных в таблице 2 признаков для конкретизации основного критерия постановки диагноза F10.1. может возникнуть сомнение, связанное с возможной несогласованностью с уточнением в МКБ-10: «тот факт, что способ употребления или определенное психоактивное вещество вызывают неодобрение со стороны другого лица или общества или могут

приводить к социально негативным последствиям, таким как арест или супружеские ссоры, сам по себе не является свидетельством употребления с вредными последствиями» [11].

Однако более глубокий взгляд на вопрос позволяет констатировать отсутствие расхождений. Такие признаки, как физические конфликты, снижение успеваемости, уходы из школы, задержание правоохранительными органами в связи с нарушением общественного порядка в результате употребления алкоголя являются, по сути, не формой «порицания» или «общественного неодобрения» а фактическим механизмом констатации дисфункционального поведения как проявления вредных последствий, обусловленных употреблением алкоголя. В совокупности с критериями Б, В, Г (табл. 1) они позволяют аргументировано обосновать диагноз «Употребление алкоголя с вредными последствиями».

Дизайн исследования – одномоментное поперечное исследование методом случай-контроль с направленным формированием групп. Оценка эффективности терапевтических вмешательств предусматривала исследование одних и тех же субъектов («до – после»), что номинируется в статистике, как дизайн с использованием исторических (катамнестических) групп сравнения.

Задачи исследования – изучить у подростков женского пола с употреблением алкоголя с вредными последствиями и в контрольной группе особенности проявления личностных акцентуаций, выраженность проявления различных типов школьной тревожности и агрессии; рассмотреть влияние личностных характеристик и паттернов эмоционального реагирования, на вероятность формирования расстройств, обусловленных употреблением алкоголя. На основе полученных результатов обосновать метод лечения и оценить его клиническую эффективность.

Таблица 2 – Социальные признаки, заслуживающие внимания при выявлении злоупотребления алкоголем

Семья / Взаимоотношения	Занятость / Образование	Правовые	Финансовые
Семейные проблемы /развод Недосмотр детей / насилие Физические конфликты / драки Времяпрепровождение с людьми, регулярно употребляющими алкоголь	Абсентеизм (прогулы / пропуски занятий) Происшествия на работе Неэффективный труд Внезапное снижение успеваемости в школе Уход из школы	Задержание в связи незаконной торговлей, воровством, нарушением общественного порядка или вождение в нетрезвом виде	Задолженность по счетам и заём денег, продажа своих вещей

Материал и методы

Обследовано 114 девочек-подростков в возрасте 14-18 лет. Основную группу (ОГ) составили 84 девочки-подростка с верифицированным диагнозом «Употребление алкоголя с вредными последствиями». Контрольная группа (КГ) из 30 девочек-подростков без алкогольных проблем. Исследуемые ОГ и КГ не отличались по возрасту ($16,13 \pm 0,18$ и $16,07 \pm 0,13$ лет). Городскими жителями в ОГ и КГ являлись соответственно 72,62% и 60% исследуемых.

Все исследуемые представители ОГ стационарно лечились в детско-подростковом отделении Витебского областного клинического центра психиатрии и наркологии.

В исследовании использованы следующие диагностические инструменты: тест личностных акцентуаций для выявления типов акцентуаций характера и сопряженных с ними личностных особенностей [42]; опросник школьной тревожности Филлипса для исследования уровня тревоги [43]; методика диагностики показателей и форм агрессии Басса-Дарки [44];

Статистическая обработка результатов исследования производилась при помощи программы SPSS for Windows 17.0.

Результаты и обсуждение

У лиц ОГ возраст первого употребления алкоголя составил $13,61 \pm 0,19$ года, а возраст начала регулярного употребления спиртного $14,82 \pm 0,17$ года.

Виды и распространенность в ОГ социальных признаков, выступающих маркерами для выявления злоупотребления алкоголем, приведены на рисунке 1.

Среднегрупповая величина периода фор-

мирования систематического употребления алкоголя в ОГ составила $1,24 \pm 0,16$ года. Установлено, что у субъектов ОГ, имеющих в анамнезеотягощенную наследственность по АЗ в сравнении с представителями данной группы без отягощенной наследственности, развитие регулярного употребления алкоголя наблюдалось в более раннем возрасте (соответственно $14,4 \pm 0,25$ года и $15,03 \pm 0,22$ года; $p < 0,05$).

Выявлена корреляционная связь между возрастом первого употребления алкоголя и длительностью периода формирования регулярного употребления спиртного ($r = -0,66$; $p < 0,05$). При этом чем меньше возраст первого приема алкоголя, тем быстрее развивается стадия его регулярного употребления.

У подростков женского пола с употреблением алкоголя с вредными последствиями анализ спектра различных видов агрессии выявил наличие по сравнению со здоровым контролем высоких уровней вербальной, косвенной агрессии, негативизма, склонности к раздражению, подозрительности, обиды, аутоагрессии, а также индексов враждебности и агрессивности. В профиле агрессивности у данного контингента преобладают подозрительность, аутоагрессивные тенденции, обида [45, 46]. Статистически доказана значительная прогностная роль модели комплексного влияния различных видов агрессии на вероятность развития употребления алкоголя с вредными последствиями у подростков женского пола [46].

У подростков женского пола с расстройствами вследствие употребления алкоголя отмечен высокий уровень всех видов школьной тревожности, а изучение влияния личностных факторов на формирование употребления алкоголя с вредными последствиями выявило преобладание в спектре структурных компонентов



Рисунок 1 – Виды и распространенность социальных маркеров злоупотребления алкоголем в ОГ.

личности лиц женского пола с алкогольной аддикцией астено-невротического и шизоидного типов личностных акцентуаций [48].

Таким образом, употребление алкоголя с вредными последствиями у лиц женского пола в подростковом возрасте представляет собой специфическое патологическое явление, имеющее собственную причинную обусловленность и клинические проявления [45].

На основании результатов, полученных в настоящем исследовании, авторами был разработан метод лечения употребления алкоголя с вредными последствиями у подростков женского пола.

Методологической основой для разработки терапевтического вмешательства стал биопсихосоциальный подход с учетом того, что в представленной модели факторов риска формирования употребления алкоголя с вредными последствиями у подростков женского пола преобладают психологические детерминанты, для коррекции данных нарушений был выбран когнитивно-биохевиориальный подход [41, 49].

Метод применялся в закрытых группах с численным составом 5-7 человек для создания условий участия в групповом процессе всех пациентов [50].

В процессе клинико-катамнестического исследования оценивалась степень нивелирования социальных маркеров проявления дисфункционального поведения как вредного последствия употребления алкоголя [41], длительность периода воздержания от спиртного, социальная адаптация. Период катамнестического наблюдения составил 12 месяцев. Анализ проводился на основе медицинских карт стационарного пациента (в случае повторных госпитализаций), данных

амбулаторного наблюдения, сведений из учреждений образования. В катамнестическом наблюдении установлено, что для представителей ОГ не произошло значимых изменений семейно-социальных и других внешних факторов.

Клинико-катамнестическое исследование всех подростков женского пола с диагнозом «Употребление алкоголя с вредными последствиями», пролеченных при помощи описанной в настоящей статье методики (77 чел.), позволило констатировать у 58 из них (75,33%) наступление периода полного воздержания, длительность которого отражена в таблице 3. Повторные госпитализации в стационар, обусловленные расстройствами вследствие употребления алкоголя, на протяжении 12 месяцев с момента завершения лечения отмечены у 8 пациенток.

Также авторами была проанализирована социальная адаптация пациентов спустя временной период в 12 месяцев с момента завершения лечения пациентов, прошедших терапию с применением разработанной методики. В качестве индикаторов были отобраны такие критерии качества социального функционирования, как диспансерный учет и учет в инспекции по делам несовершеннолетних (табл. 4).

Таким образом, полученные результаты достоверно свидетельствуют об эффективности предложенного метода.

В процессе катамнестического наблюдения также были изучены виды и распространенность социальных признаков проявления злоупотребления алкоголем [41]. Полученные данные свидетельствуют, что разработанная методика позволила добиться выраженного клинического результата, проявившегося состоянием полного воздержания от приема алкоголя длительностью

Таблица 3 – Длительность периода воздержания от употребления спиртных напитков в ОГ

Длительность периода воздержания	Число	%
Не отмечалась	19	24,68
От 3 до 6 месяцев	32	41,56
От 6 месяцев до 1года	26	33,77

Таблица 4 – Социальная адаптация подростков женского пола с употреблением алкоголя с вредными последствиями

Социальная адаптация	При включении в исследование		В катамнезе через 12 месяцев после включения в исследование	
	число	%	число	%
Диспансерный учет	43	55,85	33	42,86
Учет в ИДН	55	71,43	23	29,87

от 6 до 12 месяцев, отмеченного у 75,33% пролеченных пациентов, а также достоверном снижении выраженности факторов, выступающих в качестве вредных последствий употребления алкоголя. Достигнут также социальный эффект, выразившийся в коррекции дисфункционального поведения, улучшении адаптации в социальном окружении, снижении уровня дистресса в межличностных отношениях и повышении продуктивности социального функционирования.

Заключение

Модель факторов риска, характеризующаяся наличием специфических личностных характеристик – акцентуаций характера астено-невротического и шизоидного типов, а также высоких уровней тревожности и агрессии, обладает высокой прогностической значимостью для формирования расстройств вследствие употребления алкоголя у подростков женского пола.

Подросткам женского пола с верифицированным диагнозом «Употребление алкоголя с вредными последствиями», наряду с лечением, предусмотренным клиническими протоколами, показано применение методики, направленной на повышение коммуникативных возможностей и способностей адекватно реагировать на меняющиеся условия среды; уменьшение степени возможности неадаптивного отклика на провоцирующие тревогу факторы, нивелирование проявления агрессивных реакций.

Предпочтительным для реализации метода коррекции эмоциональных нарушений и обусловленных ими поведенческих отклонений является групповой подход, который позволяет использовать для этих целей фактор межличностного группового взаимодействия.

Применение разработанного метода лечения подростков женского пола с употреблением алкоголя с вредными последствиями возможно как на стационарном этапе, так и в амбулаторных условиях.

Полученные при реализации на практике методики лечения результаты носят стойкий характер. Катамнестическое исследование (через 12 месяцев) констатировало наличие в 33,77% случаев полного воздержания от употребления алкоголя. В исследованной популяции зафиксировано снижение выраженности социальных признаков проявления злоупотребления алкоголем на 52,81%.

Позитивные изменения отмечены также в контексте социального функционирования индивидов и проявились в виде успешной социальной адаптации 40,72% испытуемых.

Литература

1. Growing up unequal: gender and socioeconomic differences in young people's health and well-being. Health Behaviour in School-aged Children (HBSC) study : international report from the 2013/2014 survey [Electronic resource] / WHO Europe. – Mode of access: www.who.int. – Date of access: 19.08.2019.
2. Потребление алкоголя как фактор риска здоровью населения: обзор российских исследований / Н. А. Лебедева-Несевря [и др.] // Анализ риска здоровью. – 2017. – № 4. – С. 147–160.
3. Пономарева, М. С. Злоупотребление алкоголем молодыми людьми как угроза национальной безопасности России / М. С. Пономарева // Нац. интересы: приоритеты и безопасность. – 2013. – № 7. – С. 52–63.
4. The effects of alcohol on physiological processes and biological development // Alcohol Res. Health. – 2005-2005. – Vol. 28, N 3. – P. 125–131.
5. Кирпиченко, Ан. А. Алкогольная зависимость у женщин с различными формами социального функционирования : дис. ... д-ра мед. наук : 14.00.45 / Ан. А. Кирпиченко. – Москва, 2008. – 306 с.
6. Корнешов, А. А. Современный образ жизни населения, как фактор разрушения демографического потенциала России : автореф. дис. ... д-ра эконом. наук : 08.00.05 / А. А. Корнешов. – Москва, 2010. – 45 с.
7. Османов, Э. М. Влияние алкоголя на репродуктивное здоровье женщин / Э. М. Османов, А. С. Пышкина // Вестн. Тамбов. ун-та. Сер. Естеств. и тех. науки. – 2010. – Т. 15, № 1. – С. 59–62.
8. Альтшулер, В. Б. На пути к разработке МКБ-11. О совещании экспертов в области психических и поведенческих расстройств вследствие употребления психоактивных веществ (Санкт-Петербург, 8–9 июня 2010) / В. Б. Альтшулер // Соц. и клин. психиатрия. – 2010. – Т. 20, № 4. – С. 69–71.
9. Злоупотребление психоактивными веществами [Электронный ресурс] / Всемир. Организация Здравоохранения. – Режим доступа: www.who.int/substance_abuse/terminology/definition2/ru/. – Дата доступа: 19.08.2019.
10. Сиволап, Ю. П. Связанные с употреблением алкоголя расстройства: новые подходы к диагностике и лечению / Ю. П. Сиволап // Журн. неврологии и психиатрии им. С. С. Корсакова. – 2015. – Т. 115, № 9. – С. 23–27.
11. Международная классификация болезней (10-й пересмотр). Классификация психических и поведенческих расстройств : МКБ-10/УСД-10 : клинич. описания и указания по диагностике / Всемир. Организация Здравоохранения. – Санкт-Петербург : Адис, 1994. – 303 с.
12. Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders (DSM-IV) / American Psychiatric Association. – 4th ed. – Washington, DC : American Psychiatric Publishing, 1994. – 886 p.
13. Комитет экспертов ВОЗ по проблемам, связанным с потреблением алкоголя. Второй доклад. Серия техни-

- ческих докладов ВОЗ, номер 944 [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://www.who.int/publications/list/9789241209441/ru/>. – Дата доступа: 19.08.2019.
14. Jamal, M. M. Alcohol and hepatitis C / M. M. Jamal, Z. Saadi, T. R. Morgan // *Dig. Dis.* – 2005. – Vol. 23. – P. 285–296.
 15. MELD accurately predicts mortality in patients with alcoholic hepatitis / W. Dunn [et al.] // *Hepatology.* – 2005 Feb. – Vol. 41, N 2. – P. 353–358.
 16. Alcohol metabolism: role in toxicity and carcinogenesis / T. M. Badger [et al.] // *Alcohol.Clin.Exp. Res.* – 2003 Feb. – Vol. 27, N 2. – P. 336–347.
 17. Разводовский, Ю. Е. Алкогольное поражение мозга / Ю. Е. Разводовский // *Мед. новости.* – 2006. – № 1. – С. 13–17.
 18. Hommer, D. W. Male and Female Sensitivity to Alcohol-Induced Brain Damage / D. W. Hommer // *Alcohol Res. Health.* – 2003. – Vol. 27, N 2. – P. 181–185.
 19. Schlapfer, T. E. Alcohol and the brain-morphological and functional brain changes / T. E. Schlapfer // *Ther. Umschau.* – 2000 May. – Vol. 57, N 4. – P. 191–195.
 20. Nakanishi, N. Alcohol consumption and risk for development of impaired fasting glucose or type 2 diabetes in middle-aged Japanese men / N. Nakanishi, K. Suzuki, K. Takara // *Diabetes Care.* – 2003 Jan. – Vol. 26, N 1. – P. 48–54.
 21. Alcohol consumption and the incidence of type II diabetes / S. G. Wannamethee [et al.] // *Epidemiol. Community Health.* – 2002 Jul. – Vol. 56, N 7. – P. 542–548.
 22. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans / World Health Organization, International Agency for Research on Cancer. – Lyon, France : IARC, 1988. – Vol. 44 : Alcohol drinking. – 416 p.
 23. Alcohol consumption and pancreatic cancer: a pooled analysis in the International Pancreatic Cancer Case-Control Consortium (PanC4) / E. Lucenteforte [et al.] // *Ann. Oncol.* – 2011 Feb. – Vol. 23, N 2. – P. 374–382.
 24. Gene-environment interaction between an aldehyde dehydrogenase-2 (ALDH2) polymorphism and alcohol consumption for the risk of esophageal cancer / K. Matsuo [et al.] // *Carcinogenesis.* – 2001 Jun. – Vol. 22, N 6. – P. 913–916.
 25. Singletary, K. W. Alcohol and breast cancer: review of epidemiologic and experimental evidence and potential mechanisms / K. W. Singletary, S. M. Gapstur // *JAMA.* – 2001 Nov. – Vol. 286, N 17. – P. 243–251.
 26. Alcohol consumption, smoking and risk of gastric cancer: case-control study from Moscow, Russia / D. Zaridze [et al.] // *Cancer. Causes. Control.* – 2000 Apr. – Vol. 11, N 4. – P. 363–371.
 27. Hemstrom, O. Per capita alcohol consumption and ischaemic heart disease mortality / O. Hemstrom // *Addiction.* – 2001 Feb. – Vol. 96, suppl. 1. – P. S93–S112.
 28. Alcohol consumption and risk of stroke among middle-aged men: the JPHC Study Cohort I / H. Iso [et al.] // *Stroke.* – 2004 May. – Vol. 35, N 5. – P. 1124–1129.
 29. Chronic psychosocial stress predicts long-term cardiovascular morbidity and mortality in middle-aged men / B. Ohlin [et al.] // *Eur. Heart J.* – 2002 May. – Vol. 25, N 10. – P. 867–873.
 30. Alcohol consumption and risk of stroke: a meta-analysis / K. Reynolds [et al.] // *JAMA.* – 2003 Feb. – Vol. 289, N 5. – P. 579–588.
 31. Alcohol and Health : 10 th Special Report to the U.S. Congress / U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service, National Institutes of Health, National Institute on Alcohol Abuse and Alcoholism. – U.S., 2000. – 492 p.
 32. Piano, M. R. The molecular and cellular pathophysiology of heart failure / M. R. Piano, M. Bondmass, D. W. Schwertz // *Heart Lung.* – 1998 Jan-Feb. – Vol. 27, N 1. – P. 3–19.
 33. Медико-социальные и социально-экономические последствия употребления алкоголя в Республике Беларусь : аналит. докл. за 2012 год / М-во здравоохранения Респ. Беларусь, Респ. науч.-практ. центр псих. здоровья, Респ. центр наркол. мониторинга и превентологии. – Минск, 2013. – 144 с.
 34. Alcohol use and burden for 195 countries and territories, 1990–2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016 // *Lancet.* – 2018 Sep. – Vol. 392, N 10152. – P. 1015–1035.
 35. Клейберг, Ю. А. Психология девиантного поведения : учеб. пособие для вузов / Ю. А. Клейберг. – М. : ТЦ Сфера, при участии Юрайт-М, 2001. – 160 с.
 36. Кон, И. С. Психология ранней юности / И. С. Кон. – Москва : Просвещение, 1989. – 255 с.
 37. Кондрашенко, В. П. Девиантное поведение у подростка: социально-психологические и психиатрические аспекты / В. П. Кондрашенко. – Минск : Беларусь, 1988. – 204 с.
 38. Менделевич, В. Д. Психология девиантного поведения : учеб. пособие для вузов / В. Д. Менделевич. – Санкт-Петербург : Речь, 2005. – 445 с.
 39. Шнейдер, Л. Б. Девиантное поведение детей и подростков / Л. Б. Шнейдер. – Москва : Академ. проект ; Трикта, 2005. – 336 с.
 40. Наркология : нац. рук. / под ред. Н. Н. Иванца, И. П. Анохиной, М. А. Винниковой. – Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2008. – 720 с.
 41. Учебное пособие по наркологии для врачей-стажеров : пер. с англ. / под ред. В. Б. Поздняка. – Минск : Интертрак, 1997. – 124 с.
 42. Дворщенко, В. П. Диагностический тест личностных расстройств / В. П. Дворщенко. – Санкт-Петербург : Речь, 2008. – 112 с.
 43. Альманах психологических тестов / сост. и общ. ред. Римские Р. Р. и С. А. – Москва : КСП+, 1995. – 400 с.
 44. Психологические тесты для профессионалов / авт.-сост. Н. Ф. Гребень. – Минск : Современ. школа, 2008. – 496 с.
 45. Кирпиченко, А. А. Злоупотребление алкоголем девочками-подростками / А. А. Кирпиченко, А. В. Копытов, В. А. Мужиченко. – Витебск, 2017. – 250 с.
 46. Мужиченко, В. А. Анализ агрессивных тенденций у девочек-подростков с алкогольным аддитивным поведением / В. А. Мужиченко, А. В. Копытов, А. А. Кирпиченко // *Мед. журн.* – 2015. – № 1. – С. 97–101.
 47. Мужиченко, В. А. Роль феномена тревожности в формировании алкогольной аддикции / В. А. Мужиченко // *Воен. медицина.* – 2015. – № 2. – С. 31–34.
 48. Мужиченко, В. А. Личностные характеристики у девочек-подростков с алкогольным аддитивным поведением из Республики Беларусь / В. А. Мужиченко, А. В. Копытов, А. А. Кирпиченко // *Мед. журн.* – 2015. – № 3. – С. 95–99.
 49. Yalom, I. D. The Theory and Practice of Group Psychotherapy / I. D. Yalom. – 4th ed. – New York : Basic Books, 1995. – 688 p.
 50. Копытов, А. В. Метод лечения употребления алкоголя

с вредными последствиями у девочек-подростков с нарушениями поведения : инструкция по применению № 171-1115, утв. М-вом здравоохранения Респ. Беларусь 25

нояб. 2015 г. / А. В. Копытов, А. А. Кирпиченко, В. А. Мужиченко. – Минск, 2015. – 12 с.

Поступила 30.05.2019 г.

Принята в печать 25.07.2019 г.

References

- WHO Europe. Growing up unequal: gender and socioeconomic differences in young people's health and well-being. Health Behaviour in School-aged Children (HBSC) study: international report from the 2013/2014 survey [Internet]. Available from: www.who.int [Accessed 20th Aug 2019].
- Lebedeva-Nesevrya NA, Zhdanova-Zaplesvichko IG, Rerke VI, Barg AO. Alcohol consumption as a risk factor for public health: a review of Russian studies. *Analiz Riska Zdorov'iu*. 2017;(4):147-60. (In Russ.)
- Ponomareva MS. Alcohol abuse by young people as a threat to Russia's national security. *Nats Interesy Priorityty Bezopasnost'*. 2013;(7):52-63. (In Russ.)
- The effects of alcohol on physiological processes and biological development. *Alcohol Res. Health*. 2005-2005;28(3):125-31.
- Kirpichenko AnA. Alcohol dependence in women with various forms of social functioning: dis ... d-ra med nau : 14.00.45. Moscow, RF; 2008. 306 p. (In Russ.)
- Korneshov AA. Modern lifestyle of the population as a factor in the destruction of the demographic potential of Russia: avtoref dis ... d-ra ekonom nauk: 08.00.05. Moscow, RF; 2010. 45 p. (In Russ.)
- Osmanov EM, Pyshkina AS. The effect of alcohol on women's reproductive health. *Vestn Tambov Un-ta. Ser Estestv Tekh Nauki*. 2010;15(1):59-62. (In Russ.)
- Al'tshuler VB. On the way to the development of ICD-11. About a meeting of experts in the field of mental and behavioral disorders due to substance use (St. Petersburg, June 8–9, 2010). *Sots Klin Psikhatriia*. 2010;20(4):69-71. (In Russ.)
- Vsemir Organizatsiia Zdravookhraneniia. Substance Abuse [Elektronnyi resurs]. Rezhim dostupa: www.who.int/substance_abuse/terminology/definition2/ru/. Data dostupa: 19.08.2019. (In Russ.)
- Sivolap YuP. Alcohol-related disorders: new approaches to diagnosis and treatment. *Zhurn Nevrologii Psikhatrii im SS Korsakova*. 2015;115(9):23-7. (In Russ.)
- Vsemir Organizatsiia Zdravookhraneniia. International Classification of Diseases (10th revision). Classification of Mental and Behavioral Disorders: ICD-10 / USDD-10: Clinical Descriptions and Diagnostic Instructions. Saint Petersburg, RF: Adis; 1994. 303 p. (In Russ.)
- American Psychiatric Association. Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders (DSM-IV). 4th ed. Washington, DC: American Psychiatric Publishing; 1994. 886 p.
- Expert Committee on Alcohol Concerns. Second report. WHO Technical Report Series, Number 944 [Elektronnyi resurs]. Rezhim dostupa: <https://www.who.int/publications/list/9789241209441/ru/>. Data dostupa: 19.08.2019.
- Jamal MM, Saadi Z, Morgan TR. Alcohol and hepatitis C. *DigDis*. 2005;23:285-96. doi: 10.1159/000090176
- Dunn W, Jamil LH, Brown LS, Wiesner RH, Kim WR, Menon KV, et al. MELD accurately predicts mortality in patients with alcoholic hepatitis. *Hepatology*. 2005 Feb;41(2):353-8. doi: 10.1002/hep.20503
- Badger TM, Ronis MJ, Seitz HK, Albano E, Ingelman-Sundberg M, Lieber CS. Alcohol metabolism: role in toxicity and carcinogenesis. *Alcohol Clin Exp Res*. 2003 Feb;27(2):336-47. doi: 10.1097/01.ALC.0000052583.87673.37
- Razvodovskiy YuE. Alcoholic brain damage. *Med Novosti*. 2006;(1):13-7. (In Russ.)
- Hommer DW. Male and Female Sensitivity to Alcohol-Induced Brain Damage. *Alcohol Res Health*. 2003;27(2):181-5.
- Schlapfer TE. Alcohol and the brain-morphological and functional brain changes. *Ther Umschau*. 2000 May;57(4):191-5.
- Nakanishi N, Suzuki K, Takara K. Alcohol consumption and risk for development of impaired fasting glucose or type 2 diabetes in middle-aged Japanese men. *Diabetes Care*. 2003 Jan;26(1):48-54.
- Wannamethee SG, Shaper AG, Perry IJ, Alberti KG. Alcohol consumption and the incidence of type II diabetes. *Epidemiol Community Health*. 2002 Jul;56(7):542-8.
- World Health Organization, International Agency for Research on Cancer. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Lyon, France: IARC; 1988. Vol 44, Alcohol drinking. 416 p.
- Lucenteforte E, La Vecchia C, Silverman D, Petersen GM, Bracci PM, Ji BT, et al. Alcohol consumption and pancreatic cancer: a pooled analysis in the International Pancreatic Cancer Case-Control Consortium (PanC4). *Ann Oncol*. 2012 Feb;23(2):374-82. doi: 10.1093/annonc/mdr120
- Matsuo K, Hamajima N, Shinoda M, Hatooka S, Inoue M, Takezaki T, et al. Gene-environment interaction between an aldehyde dehydrogenase-2 (ALDH2) polymorphism and alcohol consumption for the risk of esophageal cancer. *Carcinogenesis*. 2001 Jun;22(6):913-6. doi: 10.1093/carcin/22.6.913
- Singletonary KW, Gapstur SM. Alcohol and breast cancer: review of epidemiologic and experimental evidence and potential mechanisms. *JAMA*. 2001 Nov;286(17):2143-51.
- Zaridze D, Borisova E, Maximovitch D, Chkhikvadze V. Alcohol consumption, smoking and risk of gastric cancer: case-control study from Moscow, Russia. *Cancer Causes Control*. 2000 Apr;11(4):363-71.
- Hemstrom O. Per capita alcohol consumption and ischaemic heart disease mortality. *Addiction*. 2001 Feb;96 Suppl 1:S93-112.
- Iso H, Baba S, Mannami T, Sasaki S, Okada K, Konishi M, et al. Alcohol consumption and risk of stroke among middle-aged men: the JPHC Study Cohort I. *Stroke*. 2004 May;35(5):1124-9. doi: 10.1161/01.STR.0000124459.33597.00
- Ohlin B, Nilsson PM, Nilsson JA, Berglund G. Chronic psychosocial stress predicts long-term cardiovascular morbidity and mortality in middle-aged men. *Eur Heart J*. 2004 May;25(10):867-73.
- Reynolds K, Lewis B, Nolen JD, Kinney GL, Sathya B, He J. Alcohol consumption and risk of stroke: a meta-analysis. *JAMA*. 2003 Feb;289(5):579-88.
- US. Department of Health and Human Services, Public Health

- Service, National Institutes of Health, National Institute on Alcohol Abuse and Alcoholism. Alcohol and Health: 10 th Special Report to the US Congress. US; 2000. 492 p.
32. Piano MR, Bondmass M, Schwertz DW. The molecular and cellular pathophysiology of heart failure. Heart Lung. 1998 Jan-Feb;27(1):3-19.
 33. M-vo zdravookhraneniia Resp Belarus', Resp nauch-prakt tsestr psikh zdorov'ia, Resp tsestr narkol monitoringa i preventologii. Medical, social and socio-economic consequences of alcohol consumption in the Republic of Belarus: analit dokl za 2012 god. Minsk, RB; 2013. 144 p. (In Russ.)
 34. Alcohol use and burden for 195 countries and territories, 1990–2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016. Lancet. 2018 Sep;392(10152):1015-1035. doi: 10.1016/S0140-6736(18)31310-2
 35. Kleyberg YuA. Psychology of Deviant Behavior: ucheb. posobie dlia vuzov. Moscow, RB: TTs Sfera pri uchastii Iurait-M; 2001. 160 p. (In Russ.)
 36. Kon IS. The Psychology of Early Youth. Moscow, RF: Prosveshchenie; 1989. 255 p. (In Russ.)
 37. Kondrashenko VP. Deviant behavior in adolescents: socio-psychological and psychiatric aspects. Minsk, RB: Belarus'; 1988. 204 p. (In Russ.)
 38. Mendelevich VD. Psychology of Deviant Behavior: ucheb posobie dlia vuzov. Saint Petersburg, RF: Rech'; 2005. 445 p. (In Russ.)
 39. Shneider LB. Deviantnoe povedenie detei i podrostkov. Moscow, RF: Akadem proekt; Trikssta; 2005. 336 p. (In Russ.)
 40. Ivanets NN, Anokhina IP, Vinnikova MA, red. Narcology: nats ruk. Moscow, RF: GEOTAR-Media; 2008. 720 p. (In Russ.)
 41. Pozdniak VB, red. Narcology textbook for interns: per s angl. Minsk, RB: Intertrakt; 1997. 124 p. (In Russ.)
 42. Dvorshchenko VP. Personality disorder diagnostic test. Saint Petersburg, RF: Rech'; 2008. 112 p. (In Russ.)
 43. Rimskiy RR, Rimskiy SA, sost, red. Al'manakh psikhologicheskikh testov. Moscow, RF: KSP +; 1995. 400 p. (In Russ.)
 44. Greben' NF. Psychological tests for professionals. Minsk, RB: Sovremen shkola; 2008. 496 p. (In Russ.)
 45. Kirpichenko AA, Kopytov AV, Muzhichenko VA. Alcohol abuse by teenage girls. Vitebsk, PB; 2017. 250 p. (In Russ.)
 46. Muzhichenko VA, Kopytov AV, Kirpichenko AA. Analysis of aggressive trends in adolescent girls with alcohol addictive behavior. Med Zhurn. 2015;(1):97-101. (In Russ.)
 47. Muzhichenko VA. The role of the phenomenon of anxiety in the formation of alcohol addiction. Voenn Meditsina. 2015;(2):31-4. (In Russ.)
 48. Muzhichenko VA, Kopytov AV, Kirpichenko AA. Personal characteristics in adolescent girls with alcohol addictive behavior from the Republic of Belarus. Med Zhurn. 2015;(3):95-9. (In Russ.)
 49. Yalom ID. The Theory and Practice of Group Psychotherap. 4th ed. New York: Basic Books; 1995. 688 p.
 50. Kopytov AV, Kirpichenko AA, Muzhichenko VA. A treatment method for harmful use of alcohol in adolescent girls with impaired behavior: instruksiia po primeneniui № 171-1115 utv. M-vom zdravookhraneniia Resp Belarus' 25 noiab 2015 g. Minsk, RB; 2015. 12 c. (In Russ.)

Submitted 30.05.2019

Accepted 25.07.2019

Сведения об авторах:

Мужиченко В.А. – соискатель кафедры психиатрии и наркологии, Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет;

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

Information about authors:

Muzhychenka U.A. – postgraduate of the Chair of Psychiatry & Narcology, Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University;

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

Адрес для корреспонденции: Республика Беларусь, 210032, г. Витебск, пр. Победы, 31/1-56. E-mail: vlad200973@mail.ru – Мужиченко Владислав Анатольевич.

Correspondence address: Republic of Belarus, 210032, Vitebsk, 31-1 Pobedy ave., 56. E-mail: vlad200973@mail.ru – Uladzislau A. Muzhychenka.

ОСОБЕННОСТИ НАПРАВЛЕННОЙ РЕГЕНЕРАЦИИ КОСТНОЙ ТКАНИ ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ РЕЗОРБИРУЕМЫХ МЕМБРАН НА ОСНОВЕ ПОЛИВИНИЛОВОГО СПИРТА С ДОБАВЛЕНИЕМ ФУЛЛЕРЕНОВ C₆₀

КАБАНЬКОВ А.В.¹, ИВАНОВ А.С.², МНАЦАКАНОВ С.С.³, РУМАКИН В.П.⁴, РЕЗНИЧЕНКО А.С.⁵

¹ООО «Умная стоматология», г. Санкт-Петербург, Российская Федерация

²Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова, г. Санкт-Петербург, Российская Федерация

³Санкт-Петербургский государственный институт кино и телевидения, г. Санкт-Петербург, Российская Федерация

⁴Российский ордена Трудового Красного Знамени научно-исследовательский институт травматологии и ортопедии им. Р.Р. Вредена, г. Санкт-Петербург, Российская Федерация

⁵ООО «Конфиденция», г. Санкт-Петербург, Российская Федерация

Вестник ВГМУ. – 2019. – Том 18, №4. – С. 91-97.

THE PECULIARITIES OF THE GUIDED BONE TISSUE REGENERATION ON USING RESORBABLE MEMBRANES BASED ON POLYVINYL ALCOHOL WITH THE ADDITION OF C60 FULLERENES

KABAN'KOV A.V.¹, IVANOV A.S.², MNATSAKANOV S.S.³, RUMAKIN V.P.⁴, REZNICHENKO A.S.⁵

¹ID Studio, Saint-Petersburg, Russian Federation

²Military Medicine Academy Named after S.M. Kirov, Saint-Petersburg, Russian Federation

³Saint-Petersburg State Institute of Cinema & Television, Saint-Petersburg, Russian Federation

⁴Russian Order of the Red Banner of Labour Research Institute of Traumatology & Orthopedics Named after R.R. Vreden, Saint-Petersburg, Russian Federation

⁵Aesthetic Orthodontics Clinic «Konfidencia», Saint-Petersburg, Russian Federation

Vestnik VGMU. 2019;18(4):91-97.

Резюме.

Актуальность исследования обусловлена возросшей необходимостью в полноценном возмещении объема костной ткани, утраченной при различных воспалительных заболеваниях и при травмах. Этой цели служит метод направленной регенерации костной ткани. Основным отличием его является использование мембран, выполняющих барьерную функцию отделения быстро растущей соединительной ткани и медленно растущей высокодифференцированной костной ткани. Однако все имеющиеся мембраны обладают определенными недостатками. Перспективной разработкой в этой области является резорбируемая мембрана на основе композиции поливиниловых спиртов с добавлением наночастиц – фуллеренов C₆₀. Впервые в эксперименте на 20 беспородных белых мышах проведено сравнение остеогенеза при укладке на костный дефект резорбируемой мембраны на основе композиции поливиниловых спиртов с добавлением фуллеренов C₆₀ и той же мембраны в сочетании с остеопластическим материалом «Остеопласт» для направленной регенерации альвеолярных отростков челюстей. При морфологическом изучении материала выявлено, что регенерат вновь образованного кортикального слоя более зрелый в той группе, где была применена резорбируемая мембрана на основе композиции поливиниловых спиртов с добавлением фуллеренов C₆₀.

Ключевые слова: направленная регенерация костной ткани, поливиниловый спирт, фуллерены C₆₀

Abstract.

The relevance of the study is conditioned by the increased need for full volume compensation of the bone tissue lost in case of various inflammatory diseases and injuries. A method of the guided bone tissue regeneration («bone tissue engineering») suits this purpose. Its main difference is the use of membranes that perform the barrier function separating

rapidly growing connective tissue from slowly growing highly differentiated bone tissue. However, all available membranes have certain disadvantages. A promising development in this area is a resorbable membrane based on the composition of polyvinyl alcohols with the addition of nanoparticles – C_{60} fullerenes. For the first time in the experiment on 20 mongrel white mice, osteogenesis was compared when laying on a bone defect the resorbable membrane based on the composition of polyvinyl alcohols with the addition of C_{60} fullerenes and the same membrane in combination with the osteoplastic material «Osteoplast» for the guided regeneration of alveolar processes of the jaws. The morphological study of the material showed that the regenerate of the newly formed cortical layer was more mature in the group where the resorbable membrane based on the composition of polyvinyl alcohols with the addition of C_{60} fullerenes was used.

Key words: guided bone tissue regeneration, polyvinyl alcohol, C_{60} fullerenes.

Актуальность работы обусловлена особенностями полноценного возмещения объема утраченной костной ткани при различных хирургических вмешательствах. Особое развитие остеопластические методики приобрели в связи с развитием имплантологических и костно-реконструктивных операций. Однако было отмечено, что при ревизии по поводу рецидивов ретикуляных кист после резекции верхушки корня в 10-15% случаев обнаруживалась несовершенная костная ткань хондроидного типа [1, 2]. С аналогичной проблемой сталкиваются и травматологи-ортопеды при заполнении остеомиелитических полостей. Наиболее полно данный вопрос исследован в области хирургической стоматологии и челюстно-лицевой хирургии. Желание разобщить процессы регенерации костной ткани и слизистой оболочки альвеолярных отростков челюстей привело к появлению мембран и методики, которая получила название направленной регенерации костной ткани (НРКТ). Данная методика основана на понимании барьерной функции мембран с целью разграничения медленно растущей высокодифференцированной костной и низкодифференцированной соединительной тканей [1-7]. Лечение протяженных костных дефектов с применением данной методики менее изучено, однако применение мембран при их лечении не только вызывает определенный интерес, но и находит практическое применение, например, технология Masquel [9], эффективная, несмотря на свою технологическую сложность. Среди имеющихся в настоящее время нерезорбируемых мембран на основе титана и политетрафторидов (ПТЭФ, Cytoplast, США), а также резорбируемых мембран на основе гетерогенного или ксеногенного коллагена и полусинтетических и синтетических мембран, наиболее перспективными представляются именно последние [1, 2, 4, 8, 10, 11]. Они не обладают ни сенсibiliзирующим, ни токсическим действием, избавиться от которых в силу

технологических особенностей не представляется возможным. Однако полилактиды, являющиеся наиболее распространенными материалами в этой группе, обладают остеоингибирующим действием [12]. Ко всему прочему, мембраны с длительными, более 4-6 недель, сроками резорбции, осумковываются и не подвергаются деградации [13]. Таким образом, все имеющиеся в настоящее время мембраны обладают определенными недостатками.

С целью оптимизации процессов остеогенеза была разработана резорбируемая мембрана на основе композиции поливиниловых спиртов (ПВС) разной степени гидратации с добавлением фуллеренов C_{60} [16, 17]. Материалы на основе ПВС хорошо известны отсутствием токсичности, биосовместимостью [14]. Однако они не отличаются биорезорбцией. Мембрана на основе композиции поливиниловых спиртов разной степени гидролиза с добавлением фуллеренов C_{60} , в отличие от «классического» поливинилового спирта, обладает свойством биорезорбции и положительно влияет на остеогенез [5, 6]. Резорбируемая мембрана на основе ПВС состоит из твердой формы – перфорированной пластинки, а также геля с порошкообразным отвердителем. В первой фазе восстановления костной ткани пластинка и гель совместно препятствуют врастанию низкодифференцированной ткани, способствуют сохранению сгустка в костном дефекте. Во второй фазе гель подвергается биорезорбции, в то время как перфорированная пластинка, сохраняя форму, не препятствует врастанию сосудов во вновь образованный регенерат костной ткани, обуславливая вазальный тип репаративного остеогенеза [4]. Углеродные нанотела – фуллерены оптимизируют процессы заживления ран в концентрации 0,2-0,02 мг% [13]. Таким образом, сравнение влияния на остеогенез резорбируемых мембран на основе композиции ПВС с добавлением фуллеренов C_{60} (ПВСФ) и этих же мембран в сочетании

с остеопластическим материалом «Остеопласт» имеет научное и практическое значение.

Цель работы – изучить в эксперименте влияние резорбируемой двухкомпонентной мембраны на основе ПВС на остеогенез.

Материал и методы

Исследование проводилось на белых беспородных крысах массой 180-200 гр в соответствии с правилами, принятыми Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и иных целей (Council of the European Communities Directive 86/609/EES) (Страсбург, 1986).

Исследование было проведено на 37 белых беспородных крысах разных полов. Была создана эффективная модель костного дефекта большеберцовых костей по ИСО 10993-99 «Изделия медицинские. Оценка биологического воздействия медицинских изделий».

После внутривенного наркоза и хирургического обеспечения доступа всем животным на бедренной кости справа и слева делался пропилен длиной 15 мм и шириной 2 мм. В правую бедренную кость укладывалась перфорированная мембрана, шириной превосходящей пропилен, с нанесенным на ее внутреннюю сторону гелем (Подгруппа Аа). В распил на левой лапе укладывался ксеногенный остеопластический материал «Остеопласт», поверх которого укладывалась резорбируемая мембрана на основе ПВС (подгруппа Аб). Во второй группе (группа Б) остеопластический материал «Остеопласт» укладывался непосредственно в распил (подгруппа Бб). В подгруппе Ба резорбируемая мембрана укладывалась непосредственно на критичный костный дефект.

Животные выводились из опыта на 28 и 42 дни (группы А и Б) и на 42 день (группа Б). После выведения из опыта на морфологическое исследование брали фрагмент кости с пропилом и окружающие мягкие ткани. Полученный материал фиксировали 10% нейтральным формалином в течение 24 ч. После проводили декальцинирование в 25% растворе органической кислоты «трилон Б», обезжизняли и заливали в парафин, применяя модульную систему заливки парафином Tissue-Tek® TEC™ 5 (Бiovитрум, Россия). После проводки и заливки в парафин изготавливали серийные срезы толщиной 5 мкм с помощью санного микротомы Leica (Leica Microsystems, Германия), которые окрашивали гематоксилин-

эозином (Бiovитрум, Россия).

Микроскопическое исследование выполняли при помощи светового микроскопа Nikon 50i с увеличением в 40, 100, 200 и 400 раз. Оценивали состояние костной ткани и костнопластического материала.

Оценивали зрелость вновь образованного регенерата кортикального слоя, его толщину и соединение с краями распила.

Для статистического анализа использовалась свободно доступная программа AtteStat версии 13.1.

Результаты

При совместном введении геля с добавлением загустителя и пленочной формы составной мембраны на срезах (рис. 1) видны к 28 суткам полноценно формирующиеся ткани компактного слоя кости, в ее толще – единичные сосуды и разрозненные единичные глыбки полупрозрачного вещества. Кортикальный слой частично восстановлен за счет разрастаний надкостницы и очагов остеогенеза. Сохраняются небольшие его дефекты, закрытые богатой клетками и сосудами соединительной тканью. Таким образом сформирована фиброзная мозоль с признаками частичной оссификации. В сформированной мозоли определяются как остатки пленки, так и геля в виде капель. К 42 суткам на препаратах видна надкостница, эндостальная реакция слабо выраженная. Дефект выполнен сформированной костной мозолью в виде компактной кости, отличается повышенной клеточностью, сниженной эозинофилией. Материал практически не определяется.

При совместном введении геля с загустителем в сочетании с остеопластом (рис. 2) на препаратах к 28 суткам в области костной мозоли четко видны костные крошки в стадии резорбции. В то же время дефект прикрыт тонкой (в соотношении 1:3 по отношению к опыту) пластинкой костной ткани в стадии формирования.

Среднее значение толщины вновь сформированного регенерата кортикального слоя в области распила при укладке на костный дефект резорбируемой мембраны на основе ПВС (табл. 1, подгруппа Аа) составила 289 мкм, среднее отклонение 96 мкм. При укладке на костный дефект смеси остеопластического материала «Остеопласт» и геля на основе композиции ПВС с добавлением фуллеренов C_{60} средняя толщина вновь образованного регенерата кортикального

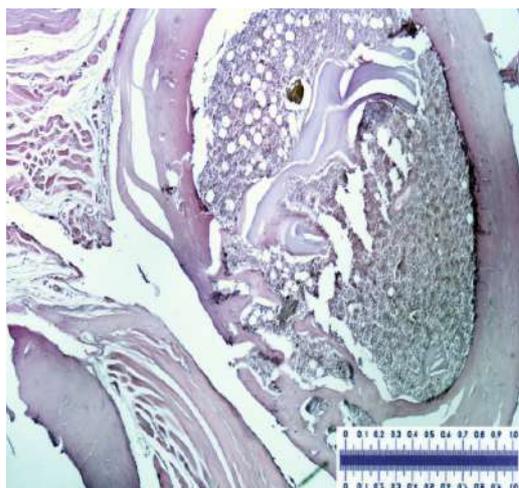


Рисунок 1 – Формирование кортикального слоя к 42 суткам. Опыт (подгруппа А а). Сформированная костная мозоль с признаками оссификации. Соединение с краем распила плотное. 42 сутки. Окраска гематоксилин-эозином. Увеличение x40.

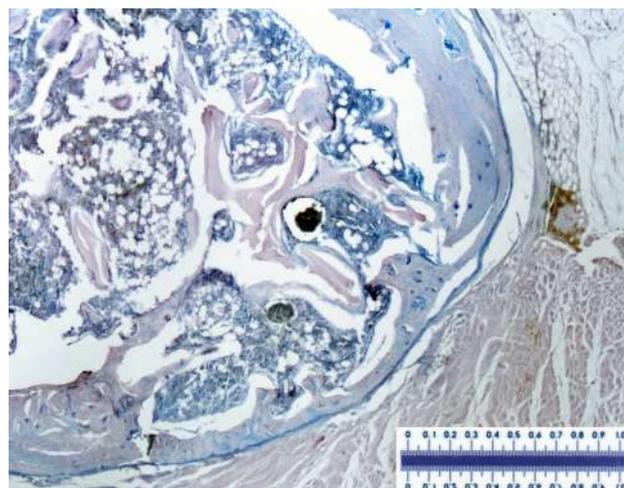


Рисунок 2 – Контроль: резорбируемая мембрана на основе ПВСФ в сочетании с остеопластическим материалом. Регенерат вновь образованного кортикального слоя тонкий. Соединение с краем распила плотное, стабильное. 42 сутки. Окраска пикрофуксином. Увеличение x40.

Таблица 1 – Сравнение остеогенеза под воздействием резорбируемой мембраны на основе композиции ПВС и геля на основе композиции ПВС в сочетании с остеопластическим материалом «Остеопласт». Частота встречаемости различной толщины кортикального слоя под воздействием разных материалов

Срок, дни	Резорбируемая мембрана на основе ПВС (подгруппа Аа)		Резорбируемая мембрана на основе ПВС в сочетании с остеопластическим материалом «Остеопласт» (подгруппа Аб)	
	Толщина кортикального слоя 168±101 мкм	Толщина кортикального слоя 289±96 мкм	Толщина кортикального слоя 168±101 мкм	Толщина кортикального слоя 289±96 мкм
28 дней	1	9	10	0
42 дня	1	9	10	0

слоя составила 168 мкм (табл. 1, подгруппа Аб), среднее отклонение 101 мкм.

При укладке в распил остеопластического материала «Остеопласт» наблюдался фиброз с участками хондроидальной ткани. Соединение с краем распила нестабильное. Кортикальный слой отсутствует. В окружающих тканях фрагменты остеопластического материала. При использовании остеопластического материала на 42 сутки отсутствовало замещение дефекта костной тканью, мозоль оставалась фиброзной с большим количеством инкапсулированных (интегрированных) нежизнеспособных костных фрагментов, часть из которых с признаками остеокластической резорбции. Васкуляризация фиброзной ткани в данной области была слабо выражена (рис. 3). Кроме того, следует отметить, что край резек-

ционного отверстия оказался окружен фиброзной тканью и подвергнулся резорбции в динамике наблюдения.

Обсуждение

Различия в формировании вновь образованного регенерата кортикального слоя, схожие по своей сути, но различные по толщине, указывают на схожий остеогенез при введении резорбируемой мембраны на основе ПВСФ и при введении в распил остеопластического материала «Остеопласт» в сочетании с резорбируемой мембраной ПВСФ. В то же время при введении в распил остеопластического материала «Остеопласт» без резорбируемой мембраны на основе ПВС мы наблюдали образование незрелого регенера-

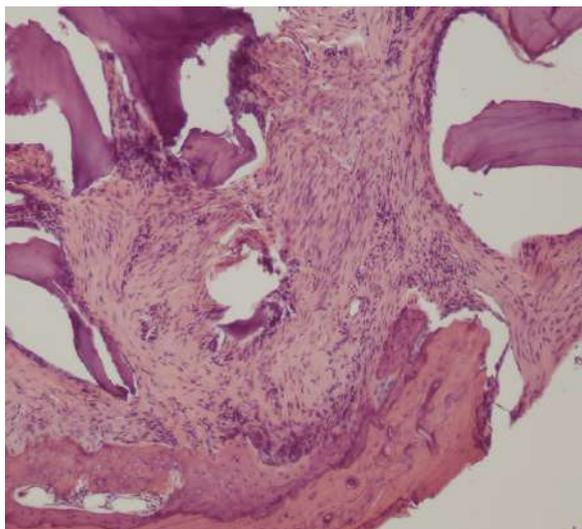


Рисунок 3 – Хондронидная ткань на месте введения в распил остеопластического материала «Остеопласт». Соединение вновь образованного регенерата костной ткани с краем распила отсутствует. 42 сутки.
Окраска гематоксилин-эозином. х 100.

та кортикального слоя, не соединенного с краем распила.

Такое различие (группа А) также имеет практическое значение. Разность долей объектов с толщиной $168 \div 101$ мкм является высоко статистически значимой (достигнутый уровень значимости точного критерия Фишера равен $0,0000 < 0,001$), разность долей объектов с толщиной $289 \div 96$ мкм также является высоко статистически значимой (достигнутый уровень значимости точного критерия Фишера равен $0,0000 < 0,001$).

Таким образом, толщина кортикального слоя на разных сроках в группах с применением резорбируемой мембраны на основе ПВСФ и резорбируемой мембраны ПВСФ в сочетании с «Остеопластом» высоко статистически значимо различается. Различие имеет также и практическое значение.

Сравнение остеогенеза по признаку несовершенного остеогенеза – образования фиброзной ткани хондронидного типа на 42 день в группе Б дает статистически следующий результат: доверительные интервалы долей объектов с разным состоянием кортикального слоя не пересекаются. Разность границ 95%-ых доверительных интервалов в разных группах составляет 79,4 процентных пункта, разность границ 99,9%-ого интервала – 50,9 процентных пункта. Такое различие

имеет практическое значение.

Таким образом, состояние кортикального слоя высоко статистически и практически значимо различается в группах с применением ПВСФ при свободной укладке и в сочетании с остеопластическим материалом «Остеопласт».

Заключение

На основании вышесказанного можно утверждать следующее:

1. Резорбируемые мембраны на основе композиции ПВС с добавлением фуллеренов C_{60} оптимизируют остеогенез.
2. Резорбируемые мембраны на основе композиции ПВС с добавлением фуллеренов C_{60} способствуют образованию полноценного регенерата кортикального слоя.
3. Резорбируемые мембраны на основе композиции ПВС с добавлением фуллеренов C_{60} могут быть рекомендованы для использования в направленной регенерации костной ткани.

Литература

1. Оценка биосовместимости резорбируемых мембран на основе поливинилового спирта с добавлением фуллеренов C_{60} / Г. А. Гребнев [и др.] // Ин-т стоматологии. – 2019. – № 1. – С. 120–122.
2. Иванов, А. С. Основы дентальной имплантации : учеб. пособие / А. С. Иванов. – СПб. : СпецЛит, 2013. – 63 с.
3. Остеопластика в хирургической стоматологии / А. С. Иванов [и др.]. – СПб. : СпецЛит, 2018. – 79 с.
4. Разработка биоматериалов для остеопластики на основе коллагеновой костной ткани / С. Ю. Иванов [и др.] // Ин-т стоматологии. – 2005. – № 4. – С. 108–111.
5. Перспективы применения резорбируемых тентовых конструкций на основе композиции поливиниловых спиртов разной степени омыления с добавлением нанотел фуллеренов с-60 и с-90 // Актуальные проблемы и перспективы развития стоматологии в условиях Севера : сб. ст. межрегионал. науч.-практ. конф., посвящ. 20-летию образования стоматол. отд-ния Мед. ин-та ФГАОУ ВПО «Северо-Восточный федеральный университет имени М. К. Аммосова». – Якутск, 2016. – С. 138–147.
6. Прохончуков, А. А. Обмен гликопротеидов в челюстных костях при экспериментальном пародонтозе / А. А. Прохончуков, Н. А. Жижина, В. К. Леонтьев // Этиология и патогенез основных стоматологических заболеваний. – М., 1977. – С. 54–57.
7. Оценка результатов оперативных вмешательств на тканях пародонта с применением мембран из политетрафторэтилена фирмы «Экофлон» / Г. И. Прохвятилов [др.] // Актуальные вопросы челюстно-лицевой хирургии и стоматологии : сб. науч. тр. конф., посвящ. 75-летию со дня основания каф. челюстно-лицевой хирургии и стоматологии. – СПб., 2004. – С. 149–150.

8. Морфологические и клинические аспекты репаративной регенерации костной ткани челюстей / Л. В. Усиков [и др.]. – СПб. : Нордмедиздат, 2014. – 144 с.
9. Masquelet, A. C. Muscle reconstruction in reconstructive surgery: soft tissue repair and long bone reconstruction / A. C. Masquelet // *Langenbecks Arch. Surg.* – 2003 Oct. – Vol. 388, N 5. – P. 344–346.
10. Bottino, M. C. Membranes for Periodontal Regeneration / M. C. Bottino, V. Thomas // *Front Oral. Biol.* – 2015. – Vol. 17. – P. 90–100.
11. The role of barrier membranes for guided bone regeneration and restoration of large bone defects: current experimental and clinical evidence / R. Dimitriou [et al.] // *BMC Med.* – 2012 Jul. – Vol. 10. – P. 81.
12. Ip, W. Y. Polylactide membranes and sponges in the treatment of segmental defects in rabbit radii / W. Y. Ip // *Injury.* – 2002 Aug. – Vol. 33, suppl. 2. – P. B66–B70.
13. Реакция тканей крыс на введение резорбируемого полимера на основе молочной кислоты / И. В. Майбородин [и др.] // *Бюл. эксперим. биологии и медицины.* – 2013. – Т. 156, № 12. – С. 848–853.
14. Ушаков, С. Н. Поливиниловый спирт и его производные. Т. 2 / С. Н. Ушаков. – М. ; Л. : Изд-во Акад. наук СССР, 1960.
15. Венгерович, Н. Г. Патогенетическое обоснование применения биоактивных наноматериалов при раневом процессе : дис. ... канд. мед. наук : 14.03.03 / Н. Г. Венгерович. – СПб., 2011. – 151 с.
16. Способ получения поливинилового спирта для изготовления пленочного материала медицинского назначения : пат. 2499012 Рос. Федерация : МПК C08L 29/04, C08K 3/04, B82B 3/00 / Кабаньков А. В., Попов В. А., Чистякова Т. А., Варламов А. В., Чезлов И. Г., Мнацаканов С. С. ; заявитель и патентообладатель Санкт-Петербург. гос. ун-т кино и телевидения. – № 2011149449/05 ; заявл. 05.12.11 ; опубл. 20.11.13, Бюл. № 32.
17. Способ получения композиции на основе смеси водорастворимых полимеров : пат. 2660033 Рос. Федерация : МПК C08J 3/03, C08L 29/04, C08K 3/045, B82Y 30/00 / Орехова Л. Н., Кабаньков А. В., Ильина В. В., Бабкин О. Э., Мнацаканов С. С. ; заявитель и патентообладатель Санкт-Петербург. гос. ун-т кино и телевидения. – № 2016119483 ; заявл. 19.05.16 ; опубл. 04.07.2018, Бюл. № 19.

Поступила 20.05.2019 г.

Принята в печать 25.07.2019 г.

References

1. Grebnev GA, Ivanov AS, Kaban'kov AV, Mnatsakanov SS, Berlin YuI. Assessment of biocompatibility of resorbed membranes based on polyvinyl alcohol with the addition of fullerenes C60. In-t *Stomatologii.* 2019;(1):120-2. (In Russ.)
2. Ivanov AS. Fundamentals of dental implantation: ucheb posobie. Saint Petersburg, RF: SpetsLit; 2013. 63 p. (In Russ.)
3. Ivanov AS, Kaban'kov AV, Mnatsakanov SS, Rumakin VP. Osteoplasty in surgical dentistry. Saint Petersburg, RF: SpetsLit; 2018. 79 p. (In Russ.)
4. Ivanov SYu, Larionov EV, Panin AM, Kravets VM, Anisimov SI, Volodina DN. Development of biomaterials for osteoplasty based on collagen bone tissue. In-t *Stomatologii.* 2005;(4):108-11. (In Russ.)
5. Kaban'kov AV, Rumakin VP, Muzykin MI, Ivanov AS. Prospects of application of resorbable tent structures on the basis of composition of polyvinyl alcohols of different degrees of saponification with addition of fullerenes c-60 and c-90. V: Aktual'nye problemy i perspektivy razvitiia stomatologii v usloviakh Severa: sb st mezhregional nauch-prakt konf, posviashch 20-letiiu obrazovaniia stomatol otd-niia Med in-ta FGAOU VPO «Severo-Vostochnyi federal'nyi universitet imeni MK Ammosova». Yakutsk, RF; 2016. P. 138-47. (In Russ.)
6. Prokhonchukov AA, Zhizhina NA, Leont'yev VK. Exchange of glycoproteins in the jawbone in experimental periodontal disease. V: Etiologiya i patogenez osnovnykh stomatologicheskikh zabolevanii. Moscow, RF; 1977. P. 54-7.
7. Prokhvatilov GI, Kovalevskiy AM, Iordanishvili AK, Gordeev SA, Usikov DV. Evaluation of the results of surgical interventions on periodontal tissues with the use of membranes made of polytetrafluoroethylene by Ecoflon. V: Aktual'nye voprosy cheliustno-litsevoi khirurgii i stomatologii: sb nauch tr konf, posviashch 75-letiiu so dnia osnovaniia kaf cheliustno-litsevoi khirurgii i stomatologii. Saint Petersburg, RF; 2004. P. 149-50. (In Russ.)
8. Usikov LV, Iordanishvili AK, Balin DV, Shengeliya EV. Morphological and clinical aspects of reparative regeneration of jaw bone tissue. Saint Petersburg, RF; 2014. 144 p. (In Russ.)
9. Masquelet AC. Muscle reconstruction in reconstructive surgery: soft tissue repair and long bone reconstruction. *Langenbecks Arch Surg.* 2003 Oct;388(5):344-6. doi: 10.1007/s00423-003-0379-1
10. Bottino MC, Thomas V. Membranes for Periodontal Regeneration. *Front Oral Biol.* 2015;17:90-100. doi: 10.1159/000381699
11. Dimitriou R, Mataliotakis GI, Calori GM, Giannoudis PV. The role of barrier membranes for guided bone regeneration and restoration of large bone defects: current experimental and clinical evidence. *BMC Med.* 2012 Jul;10:81. doi: 10.1186/1741-7015-10-81
12. Ip WY. Polylactide membranes and sponges in the treatment of segmental defects in rabbit radii. *Injury.* 2002 Aug;33 Suppl 2:B66-70.
13. Mayborodin IV, Kuznetsova IV, Beregovoy EA, Shevela AI, Mayborodina VI, Manaev AA, i dr. Reaction of rat tissues to the introduction of a resorbable lactic acid-based polymer. *Biul Eksperim Biologii Meditsiny.* 2013;15(12):848-53. (In Russ.)
14. Ushakov SN. Polyvinyl alcohol and its derivatives. T 2. Moscow, RF; Leningrad, RF: Izd-vo Akad nauk SSSR; 1960. (In Russ.)
15. Vengerovich NG. Pathogenetic substantiation of the use of bioactive nanomaterials in the wound process: dis ... kand med nauk: 14.03.03. Saint Petersburg, RF; 2011. 151 p. (In Russ.)
16. Kaban'kov AV, Popov VA, Chistyakova TA, Varlamov AV,

Chezlov IG, Mnatsakanov SS; zaiavitel' i patentoobladatel' Sankt-Peterburg gos un-t kino i televideniia. Method of polyvinyl alcohol production for manufacturing of medical film material: pat. 2499012 Ros Federatsiia: MPK C08L 29/04, C08K 3/04. B82B 3/00. № 2011149449/05; zaiavl 05.12.11; opubl 20.11.13, Biul № 32. (In Russ.)

17. Orekhova LN, Orekhova LN, Kaban'kov AV, Il'ina VV,

Babkin OE, Mnatsakanov SS; zaiavitel' i patentoobladatel' Sankt-Peterburg gos un-t kino i televideniia. Method for obtaining a composition based on a mixture of water-soluble polymers: pat. 2660033 Ros Federatsiia: MPK C08J 3/03, C08L 29/04, C08K 3/045, B82Y 30/00. № 2016119483; zaiavl 19.05.16; opubl 04.07.2018, Biul № 19. (In Russ.)

Submitted 20.05.2019

Accepted 25.07.2019

Сведения об авторах:

Кабаньков А.В. – врач-стоматолог-хирург, ООО «Умная стоматология»;

Иванов А.С. – д.м.н., профессор кафедры челюстно-лицевой хирургии и хирургической стоматологии, Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова;

Мнацаканов С.С. – д.т.н., профессор кафедры технологии полимеров и композитов, Санкт-Петербургский государственный институт кино и телевидения;

Румакин В.П. – к.м.н., ст.н.с. экспериментально-патоморфологического отделения, Российский ордена Трудового Красного Знамени научно-исследовательский институт травматологии и ортопедии им. Р.Р. Вредена;

Резниченко А.С. – врач-стоматолог ООО «Конфиденция».

Information about authors:

Kaban'kov A.V. – dental surgeon, ID Studio;

Ivanov A.S. – Doctor of Medical Sciences, professor of the Chair of Maxillofacial Surgery & Operative Dentistry, Military Medicine Academy Named after S.M. Kirov;

Mnatsakanov S.S. – Doctor of Technical Sciences, professor of the Chair of Polymers & Composites Technology, Saint-Petersburg State Institute of Cinema & Television;

Rumakin V.P. – Candidate of Medical Sciences, senior research officer of the experimental and pathomorphologic department, Russian Order of the Red Banner of Labour Research Institute of Traumatology & Orthopedics Named after R.R. Vreden;

Reznichenko A.S. – dentist, Aesthetic Orthodontics Clinic «Konfidencia».

Адрес для корреспонденции: Российская Федерация, 197000, г. Санкт-Петербург, пер. Пирогова, 16, оф. 17.

E-mail: Viandr2007@yandex.ru – Кабаньков Андрей Васильевич.

Correspondence address: Russian Federation, 197000, Saint-Petersburg, 16 Pirogov per., ID Studio. E-mail:

Viandr2007@yandex.ru – Andrey V. Kaban'kov.

ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОЙ РАЗРАБОТКИ ЛЕКАРСТВЕННОГО СРЕДСТВА НА ОСНОВЕ РАНОЛАЗИНА

КЛИМАСHEВИЧ В.Б.¹, КАЗЮЧИЦ О.А.¹, ЖЕБЕНТЯЕВ А.И.², ГУДОВИЧ В.В.¹,
НАСЕННИКОВА Е.Е.¹

¹Республиканское производственное унитарное предприятие «АКАДЕМФАРМ», г. Минск, Республика Беларусь

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

Вестник ВГМУ. – 2019. – Том 18, №4. – С. 98-112.

TECHNOLOGICAL ASPECTS OF THE PHARMACEUTICAL DEVELOPMENT OF THE RANOLAZINE-BASED DRUG

KLIMASHEVICH V.B.¹, KAZYUCHITS O.A.¹, ZHEBENTYAEV A.I.², GUDOVICH V.V.¹, NASENNIKOVA E.E.¹

¹Republican Unitary Enterprise «ACADEMPHARM», Minsk, Republic of Belarus

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

Vestnik VGMU. 2019;18(4):98-112.

Резюме.

Цель работы – на основании исследования закономерностей высвобождения ранолазина из матричных таблеток разработать генерическое лекарственное средство, выявить основные риски для качества целевого продукта на стадии разработки состава и технологии получения готовой лекарственной формы.

Материал и методы. Оценка эквивалентности в тесте сравнительной кинетики растворения *in vitro* таблеток исследуемых вариантов и таблеток оригинального препарата проведена в следующих фармакопейных средах растворения: 0,1 М раствор HCl с pH 1,2, ацетатный буфер с pH 4,5, фосфатный буфер с pH 6,8, 0,1 М раствор HCl (pH 1,2) со сменой через 2 часа на фосфатный буферный раствор (pH 6,8). В среде со сменой pH с 1,2 на 6,8 проведен двухфакторный дисперсионный анализ. Окончательная оптимизация состава лекарственного средства на основе ранолазина осуществлена в результате проведения полного факторного эксперимента 2³.

Результаты. Исследовано высвобождение ранолазина из таблеток пролонгированного действия, полученных на основе комбинированной матричной системы из pH-независимого и pH-зависимого полимеров, в фармакопейных средах с pH 1,2, 4,5 и 6,8. В среде со сменой pH с 1,2 на 6,8 в результате проведения двухфакторного дисперсионного анализа выявлены факторы (тип pH-зависимого и pH-независимого полимера), значительно влияющие на высвобождение ранолазина в изучаемых временных точках. В качестве pH-независимых полимеров использованы: Methocel E10M Premium CR, Methocel K100M Premium CR; в качестве pH-зависимых полимеров использованы: Eudragit L 100-55, Kollicoat MAE 100P, Carbopol 974 P. Разработан состав гидрофильной матрицы, который обеспечивает эквивалентные профили растворения с оригинальным лекарственным средством в тесте сравнительной кинетики растворения *in vitro* во всех исследуемых средах. Оптимизирован состав нефункциональных эксципиентов с помощью полного факторного эксперимента 2³.

Заключение. В ходе фармацевтической разработки состава и технологии получения выявлены следующие риски для качества генерического лекарственного средства на основе ранолазина: тип и марка pH-зависимого и pH-независимого полимера матрицы, количество нематрицеобразующих вспомогательных веществ в таблетке, тип оборудования и усилие прессования, а также геометрические характеристики таблетки.

Ключевые слова: ранолазин, пролонгированное действие, матричные таблетки, pH-зависимый полимер, pH-независимый полимер.

Abstract.

Objectives. To develop a generic drug, identify the main risks to the quality of the target product at the stage of the

development of its composition and technology for the production of the finished dosage form, taking the results of the study of the regularities of the ranolazine release from matrix tablets as the basis.

Material and methods. The equivalence assessment in the test of the comparative kinetics of in vitro dissolution of the tablets of the studied variants and tablets of the original drug was carried out in the following pharmacopoeial dissolution media: 0.1 M HCl solution with pH 1.2, acetate buffer with pH 4.5, phosphate buffer with pH 6.8, 0.1 M HCl solution (pH 1.2) with a change in 2 hours to phosphate buffer solution (pH 6.8). In the medium with a pH change from 1.2 to 6.8, two-factor dispersion analysis was performed. The final optimization of the composition of the drug based on ranolazine was carried out as a result of the full factorial experiment 2³.

Results. The release of ranolazine from prolonged action tablets, obtained on the basis of a combined matrix system from pH-independent and pH-dependent polymers, was studied in pharmacopoeial media with pH 1.2, 4.5 and 6.8. In the medium with pH change from 1.2 to 6.8, as a result of the made two-factor analysis of variance, factors (type of pH-dependent and pH-independent polymer) were identified that significantly affect the release of ranolazine at the time points studied. The following polymers were used as pH-independent: Methocel E10M Premium CR, Methocel K100M Premium CR; the following polymers were used as pH-dependent: Eudragit L 100-55, Kollicoat MAE 100P, Carbopol 974 P. The composition of the hydrophilic matrix was developed, that provides dissolution profiles equivalent to the original drug in the test of comparative in vitro dissolution kinetics in all media studied. The composition of nonfunctional excipients was optimized using the full factorial experiment 2³.

Conclusions. During the pharmaceutical development of the composition and production technology, the following risks to the quality of ranolazine-based generic product were revealed: the type and brand of pH-dependent and pH-independent polymer matrix, the number of non-matrix-forming substances in the tablet, the type of equipment and pressing force, as well as geometric characteristics of the tablet.

Key words: ranolazine, prolonged action, matrix tablets, pH-dependent polymer, pH-independent polymer.

Ранолазин – высокоэффективное антиангинальное и антиишемическое средство, которое в сравнении с другими антиангинальными лекарственными средствами (ЛС) характеризуется хорошей переносимостью и отсутствием статистически значимого влияния на гемодинамические показатели сердца [1].

Ранолазин относится ко второму классу биофармацевтической системы классификации, т.е. обладает низкой растворимостью в физиологическом диапазоне рН и высокой проницаемостью [2, 3]. При этом растворимость ранолазина зависит от рН среды: ранолазин растворим при рН от 1,2 до 3,0, но с ростом значения рН его растворимость падает [3, 4].

В Республике Беларусь в 2017 году зарегистрировано оригинальное ЛС «Ранекса», которое представляет собой лекарственную форму пролонгированного действия [5, 6]. Фармацевтическая разработка генерического ЛС на основе ранолазина с модифицированным высвобождением представляет собой сложную задачу, однако использование современной концепции «Качество путем разработки» (Quality-by-Design, QbD) на основе научных данных, с учетом управления рисками для качества позволяет достичь результата.

К особенностям подхода QbD относят: выявление на основе литературных и экспериментальных данных характеристик субстанции,

вспомогательных веществ и параметров технологического процесса, оказывающих влияние на критические показатели качества продукта, а также оценку с помощью математического моделирования степени влияния свойств материалов и параметров технологического процесса на критические свойства ЛС [7].

Ориентация фармацевтической разработки на аспекты QbD позволяет обоснованно подходить к планированию научных исследований. При этом важно выбрать четкую стратегию принятия решений на основе анализа результатов по каждой серии опытов и минимизировать число экспериментов. Для планирования применяются методы, основанные на использовании математического аппарата, одним из них является полный факторный эксперимент. При этом важной задачей является не только создание математической модели, но и правильная ее интерпретация – определение того, в какой мере каждый из факторов системы влияет на параметр оптимизации [8-10].

Ранее нами установлено, что достичь пролонгированного высвобождения в ЛС на основе ранолазина можно при использовании функциональных эксципиентов рН-независимой природы: генерический препарат эквивалентен оригинальному в тесте сравнительной кинетики растворения in vitro в целевой среде с рН 1,2 [11].

Гидрофильная матрица, полученная лишь на основе рН-независимого компонента, с одинаковой скоростью образует гель, независимо от значения рН среды. В кислой среде, где ранолазин хорошо растворим, начинается его диффузия в раствор уже на стадии гелеобразования рН-независимого полимера. С ростом рН среды растворимость ранолазина падает, что приводит к тому, что лимитирующей стадией для его высвобождения является эрозия рН-независимой матрицы.

С другой стороны, использование в качестве матрицеобразователя только рН-зависимого компонента в целом недостаточно эффективно, т. к. в кислой среде стадия его гелеобразования происходит неполностью, т. е. пролонгация хорошо растворимого в этой среде ранолазина недостаточна для обеспечения адекватного терапевтического эффекта. Так как растворимость ранолазина зависит от значения рН среды, матрица должна адекватно реагировать на изменение рН среды. Следовательно, для разработки готовой лекарственной формы пролонгированного действия на основе ранолазина оправдано использование комбинации полимеров рН-зависимой и рН-независимой природы [12]. Комбинированная матрица представляет собой систему, в которой рН-независимый полимер за счет продолжительного гелеобразования выполняет основную пролонгирующую функцию в кислой среде (при этом нерастворимый в этой среде рН-зависимый компонент жестко фиксирует матрицу), а в средах с рН выше 5,5 запускается гелеобразование рН-зависимого компонента, которое приводит к быстрому растворению линейных полимеров. В результате при высоких значениях рН в матрице образуются дополнительные поры, что позволяет среде лучше проникать в полость матрицы и быстрее ее разрушать.

К пролонгирующим эксципиентам рН-независимой природы относят поливинилпирролидон (ПВП), метилцеллюлозу (МЦ), гидроксипропилцеллюлозу (ГЭЦ), гидроксипропилметилцеллюлозу (ГПМЦ) [17].

На фармацевтическом рынке представлены пролонгирующие функциональные эксципиенты рН-зависимой природы на основе производных акриловой и метакриловой кислот для обеспечения замедленного высвобождения: Carborol производства компании Lubrizol (США), Noveon производства компании Lubrizol (США), Kollicoat производства компании BASF (Германия),

Eudragit производства компании Evonik (Германия) [18, 19].

Особенностью использования большинства рН-зависимых матричных эксципиентов является необходимость их частичной нейтрализации слабыми щелочными растворами. За счет перехода части карбоксильных групп метакриловой / акриловой кислоты в гидрофильную соль увеличивается скорость гидратации и набухания сополимера и реализуется необходимая степень высвобождения действующего вещества. Рекомендуемое количество частично нейтрализованных карбоксильных групп обусловлено природой полимера и степенью замещения функциональных групп. Так при нейтрализации большего количества карбоксильных групп происходит резкое увеличение вязкости полимера до нетехнологического уровня, что препятствует образованию однородных матриц. С учетом изложенного, рекомендуемые концентрации рН-зависимых компонентов в таблетке составляют от 5 до 20%, а рекомендуемое количество карбоксильных групп для нейтрализации варьирует в пределах от 4 до 6% [13, 14].

Из класса рН-зависимых матрицеобразующих полимеров особый интерес представляют производные акриловой кислоты под торговой маркой Carborol. Гелеобразование этих гидрофильных полимеров в кислой среде проходит не полностью, а с ростом рН скорость гелеобразования увеличивается. Образующийся гель (гидрогель) отличается от традиционных матричных гелей, полученных из линейных полимеров. Гидрогели представляют собой нерастворимые структуры из перекрестносшитых полимеров. Сеть сшивки позволяет захватывать действующее вещество в гидрогелевых доменах. Поскольку эти гидрогели не растворяются, то эрозия матрицы в виде линейных полимеров не происходит. Поэтому рН-зависимые по своей природе полимеры Carborol не всегда образуют рН-зависимые матрицы. Высвобождение действующего вещества из карбопольных матриц обусловлено его растворимостью в зависимости от рН среды. Если действующее вещество растворимо во всем физиологическом диапазоне рН, то скорость его высвобождения из карбопольных матриц в разных средах одинакова: действующее вещество начинает растворяться, как только среда проникнет в таблетку посредством образования геля или без него. Для действующих веществ, меняющих растворимость в зависимости от рН среды (к ко-

торым относится ранолазин), высвобождение из карбопильных матриц будет зависеть от pH среды.

Цель работы – на основании исследования закономерностей высвобождения ранолазина из матричных таблеток разработать генерическое лекарственное средство, выявить основные риски для качества целевого продукта на стадии разработки состава и технологии получения готовой лекарственной формы.

Материал и методы

Материал. Для разработки готовой лекарственной формы использованы образцы субстанции Ранолазин основание, производства индийских фирм Cipla и Unichem, а также следующие пролонгирующие вспомогательные вещества: Methocel E10M Premium CR, Methocel K100M Premium CR, производитель Colorcon (Великобритания); Eudragit L 100-55, производитель Evonik (Германия); Kollicoat MAE 100P, производитель Basf (Германия); Carbolon 974 P, производитель Lubrizol (США). В качестве нематрицеобразующих эксципиентов использованы: микрокристаллическая целлюлоза (МКЦ) Pharmacel 102, производитель Dfe Pharma (Германия); магния стеарат Magnesia 4263, производитель Magnesia GmbH (Германия); пленкообразователь Opadry II 85F23426, производитель Colorcon (Великобритания). Оригинальное ЛС «Ранекса», производства компании Menarini-von Heyden, GmbH (Германия) использовано в качестве препарата сравнения.

Оборудование. Для фармацевтической разработки ЛС на основе ранолазина использовано лабораторное оборудование: высокоскоростной смеситель-гранулятор SM-5 (Корея), однопуансонный таблеточный пресс Erweka EP-1 (Германия), лабораторная система грануляции и пеллетирования в псевдооживленном слое Innojet Ventilus (Италия), автоматическая система для нанесения пленочного покрытия Sejong SFC-30FSH (Корея), роторный таблеточный пресс Sejong MRC-30 N (Корея), сушильный шкаф Heraeus UT-6200 (Германия).

Приготовление образцов таблеток на основе ранолазина. Опытные образцы таблеток пролонгированного действия наработаны с применением технологии влажного гранулирования. Тщательно перемешанная на высокоскоростном смесителе-грануляторе смесь фармацевтической субстанции ранолазина, полимеров и МКЦ ув-

лажена водным раствором NaOH. Увлажненная смесь гранулирована через сито с номинальным размером отверстий 710 мкм и высушена до значения влагосодержания 2,0%. Полученная масса опудрена магния стеаратом.

Таблетки получены при значениях усилия прессования от 1800 до 2300 кг в лабораторных условиях и от 1100 до 2300 кг в условиях производства. Таблетирование проводилось с использованием оснастки типа «облонг» размерами (19,6x8,80) мм и (17,3x8,8) мм. Масса таблетки-ядра для всех образцов составила до оптимизации состава (666,7±33,3) мг, после оптимизации состава – (670,0±33,5) мг.

В качестве защитного пленочного покрытия для разрабатываемых таблеток использована оболочка на основе ГПМЦ в количестве около 5% от массы таблетки.

Фармацевтико-технологические испытания образцов таблеточной массы и полученных таблеток. Прибор Erweka GTB (Германия) использован для определения текучести. Тестер Erweka SWM-202 (Германия) использован для определения насыпной плотности и плотности после усадки. По полученным данным рассчитаны коэффициент сжимаемости и отношение Хауснера. Определение истираемости проведено с использованием прибора Erweka TAR 120 (Германия), прочность таблеток на сжатие определена с использованием тестера Erweka TBH 225 (Германия) [15].

Тест сравнительной кинетики растворения in vitro. Сравнительная оценка эквивалентности in vitro таблеток исследуемых вариантов ЛС и оригинального препарата проведена в следующих фармакопейных средах растворения: 0,1 М раствор HCl с pH 1,2, ацетатный буфер с pH 4,5, фосфатный буфер с pH 6,8, 0,1 М раствор HCl (pH 1,2) со сменой через 2 часа на фосфатный буферный раствор (pH 6,8). Тест проведен с помощью online-системы растворения Erweka DT 800 (Германия), с автоматическим отбором проб и спектрофотометром Perkin-Elmer Lambda 25 (США). Температура среды растворения 37±0,5°C, скорость перемешивания – 100 об/мин, общее время экспозиции – 24 ч. Для анализа использована длина волны максимума поглощения ранолазина, равная 230 нм.

Для оценки эквивалентности профилей высвобождения использован регламентированный ГФ РБ метод расчета фактора подобия (f_2) [15]. Расчет вели по формуле (1):

$$f_2 = 50 \lg \left\{ \left[1 + \frac{1}{n} \sum (\bar{R}_i - \bar{T}_i)^2 \right]^{0.5} \cdot 100 \right\} \quad (1)$$

где:

f_2 – коэффициент подобия;

n – число временных точек контроля;

R_i – количество ранолазина, перешедшего в раствор из ЛС сравнения в i -той временной точке, %;

T_i – количество ранолазина, перешедшего в раствор из испытуемого ЛС в i -той временной точке, %.

Двухфакторный дисперсионный анализ.

С целью оценки влияния двух факторов (комбинации типов рН-зависимого и рН-независимого пролонгирующего компонентов в таблетке) на высвобождение ранолазина проведен двухфакторный эксперимент (с повторениями) с использованием статистического пакета анализа данных STATISTICA Version 10 и продублирован в программе Microsoft Excel с помощью статистической надстройки «Анализ данных». С помощью двухфакторного дисперсионного анализа установлено, какие факторы оказывают значимое влияние на высвобождение ранолазина при замене значений рН с 1,2 на 6,8. Определено, при каких именно комбинациях исследуемых факторов высвобождение ранолазина различается значимо. Однородность дисперсии проверена с помощью F критерия Фишера, что позволило выявить факторы (комбинацию рН-зависимого и рН-независимого компонента), оказывающие значимое влияние на процесс высвобождения ранолазина в исследуемой модельной среде ($P < 0,05$; $F_{crit} < F_{cal}$).

Полный факторный эксперимент (ПФЭ).

Окончательная оптимизация состава ЛС на основе ранолазина осуществлена в результате проведения полного факторного эксперимента 2^3 . В качестве параметра оптимизации (выходной функции) выбраны две фармацевтико-технологические характеристики таблеток: прочность таблеток на сжатие (y_1) и прочность таблеток на истирание (y_2). В качестве влияющих факторов оценены: x_1 – количество МКЦ в таблетке, мг; x_2 – количество магния стеарата в таблетке, мг и x_3 – усилие прессования, кг. Выбор указанных факторов обусловлен фиксированным качественным и количественным составом матрицеобразующих веществ в таблетке.

Результаты и обсуждение

Обеспечение эквивалентности лекарственных препаратов при разработке генерических лекарственных форм, характеризующихся моди-

фицированным высвобождением, – задача более сложная, чем при разработке препаратов с немедленным высвобождением [16]. При этом существенным фактором является сопоставимость качественного и количественного состава эксципиентов с оригинальным лекарственным средством. В случае внесения в состав ЛС с модифицированным высвобождением эксципиентов, которые не используются в составе оригинального ЛС, требуется обоснование и дополнительные исследования. При существенных различиях в составах вспомогательных веществ появляются дополнительные критические параметры, которые могут повлиять на качество, безопасность и эффективность ЛС [17, 18].

Ранее нами разработана рецептура таблеток ранолазина, пролонгирующий эффект которых обеспечен за счет рН-независимого матрицеобразующего компонента на основе ГПМЦ (Methocel E10M или K100M). Однако достичь эквивалентности генерического препарата оригинальному в модельной среде с рН 6,8 не удалось. Поэтому для достижения эквивалентности в требуемых ГФ РБ средах опробовали ряд комбинаций рН-независимого и рН-зависимого полимеров. В качестве рН-независимого полимера в комбинациях использовали ГПМЦ двух марок, которые отличаются по типу замещения (2910 и 2208) и вязкости (порядка 10,0 и 100,0 мПа·с): Methocel E10M и Methocel K100M. В качестве рН-зависимых полимеров использовали сополимеры метакриловой кислоты и этилакрилата разных производителей Eudragit L 100-55 (тип А) и Kollicoat MAE 100P (тип В) и производное акриловой кислоты Carbopol 974 Р.

Исследовано шесть рецептурных вариантов, содержащих комбинацию из рН-зависимого и рН-независимого компонента. Характеристики рецептурных вариантов приведены в таблице 1.

Качественный и количественный состав таблеток-ядер вариантов В1, В2, В4, В5 соответствует составу ЛС «Ранекса» [6], а варианты В3 и В6 содержат альтернативный рН-зависимый компонент Carbopol 974 Р.

Образцы таблеток по исследуемым вариантам наработаны в лабораторных условиях при одинаковом усилии прессования – 1800 кг. Исследованы фармацевтико-технологические показатели образцов таблеточной массы и таблеток, полученных по исследуемым вариантам. Результаты приведены в таблице 2.

Все полученные образцы таблеточной мас-

Таблица 1 – Варианты комбинаций pH-зависимых и pH-независимых пролонгирующих полимеров

pH-независимая марка пролонгатора	pH-зависимая марка пролонгатора		
	Eudragit L 100-55	Kollocoat MAE 100P	Carbopol 974 P
Methocel E10M	B1	B2	B3
Methocel K100M	B4	B5	B6

Таблица 2 – Фармацевтико-технологические показатели образцов таблеточной массы и таблеток ранолазина

Вариант	Показатель							
	Таблеточная масса						Таблетки	
	Угол естественного откоса, °	Коэффициент сжимаемости, %	Отношение Хауснера	Сыпучесть, г/с	Насыпная плотность, г/мл	Плотность после усадки, г/мл	Прочность, Н	Истираемость, %
B1	38	21,83±0,69	1,28±0,01	3,00±0,11	0,42±0,01	0,53±0,01	75-82	0,25
B2	37	16,65±0,51	1,20±0,01	2,50±0,02	0,43±0,01	0,51±0,01	68-85	0,16
B3	39	18,53±1,56	1,23±0,02	2,20±0,07	0,41±0,01	0,50±0,01	81-92	0,19
B4	37	19,90±0,72	1,25±0,01	2,90±0,01	0,42±0,01	0,53±0,01	74-83	0,20
B5	40	12,54±1,01	1,14±0,01	2,10±0,08	0,45±0,01	0,52±0,01	69-75	0,21
B6	38	20,10±2,28	1,25±0,04	2,40±0,03	0,42±0,01	0,52±0,01	79-86	0,17

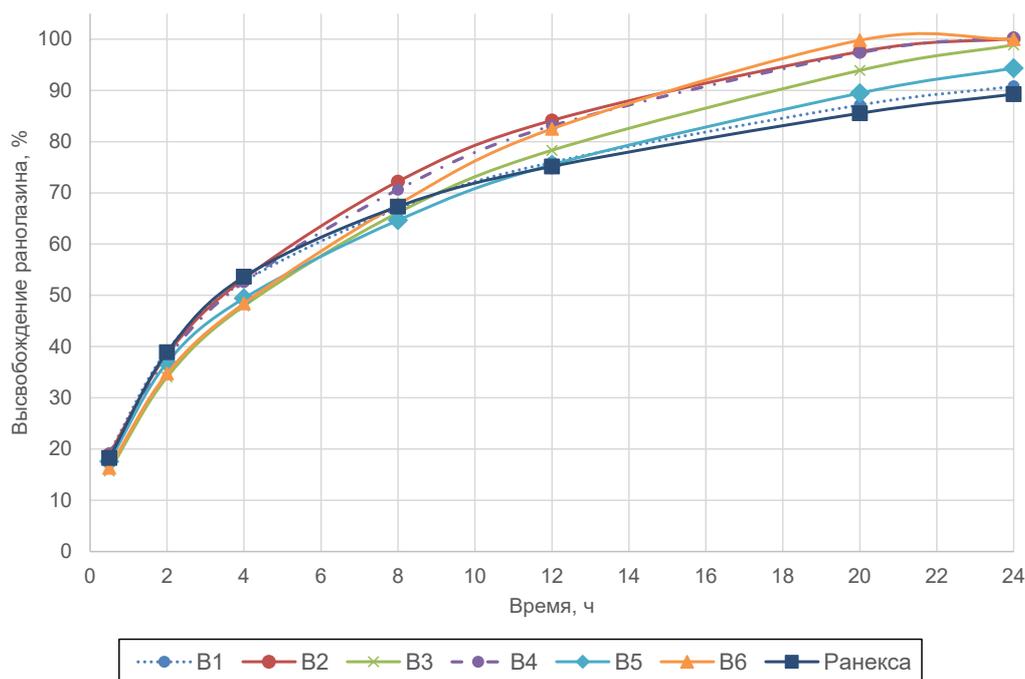


Рисунок 1 – Кинетические кривые высвобождения ранолазина из исследуемых таблеток в сравнении с оригинальным ЛС в среде с pH 1,2.

сы и таблеток удовлетворяли требованиям ГФ РБ по фармацевтико-технологическим показателям.

Провели исследование в тесте сравнительной кинетики растворения *in vitro* с оригинальным ЛС «Ранекса» в средах с pH 1,2; 4,5 и 6,8. Кинетические кривые представлены на рисунках 1, 2, 3.

Проанализировав данные по высвобождению ранолазина в рассматриваемых средах, можно сделать вывод о том, что наибольшей дискриминаторной способностью обладает среда со значением pH 6,8 (т.е. различие между вариантами в ней больше), однако практический интерес представляет среда с переходом от кислотной

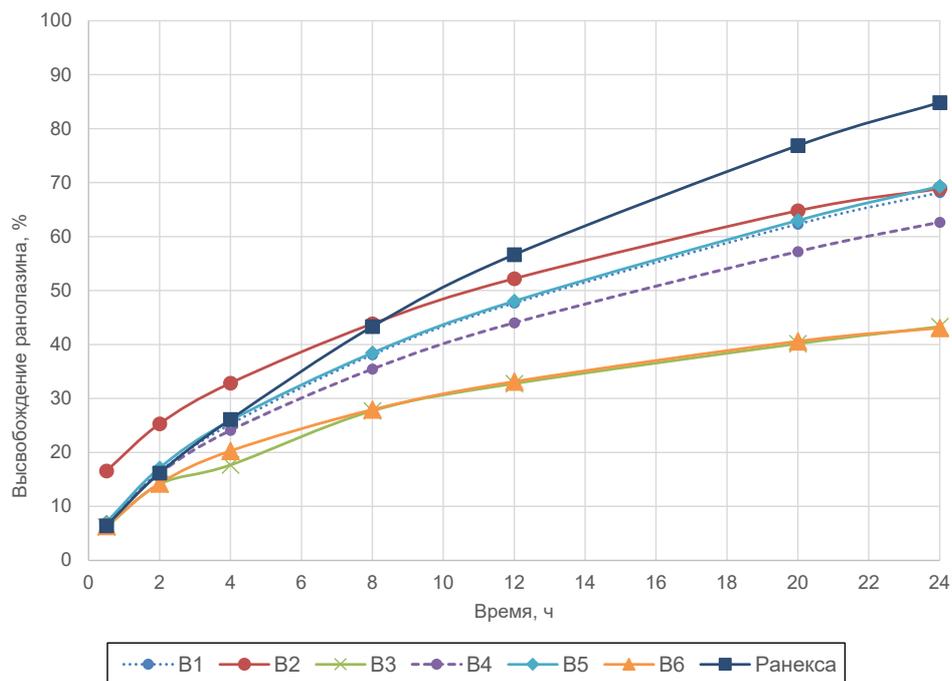


Рисунок 2 – Кинетические кривые высвобождения ранолазина из исследуемых таблеток в сравнении с оригинальным ЛС в среде с рН 4,5.

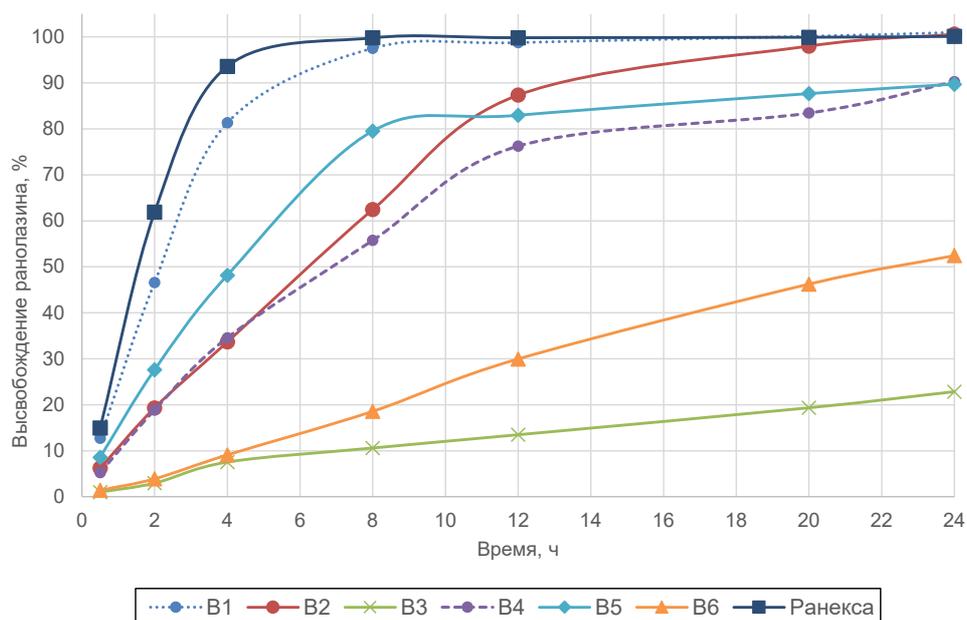


Рисунок 3 – Кинетические кривые высвобождения ранолазина из исследуемых таблеток в сравнении с оригинальным ЛС в среде с рН 6,8.

стадии в среде с низким значением рН к буферной стадии с более высоким значением рН среды, так как это позволяет смоделировать и изучить поведение лекарственного препарата при переходе из одного отдела ЖКТ в другой.

Графики сравнительной кинетики высвобождения исследуемых вариантов и ЛС «Ранек-

са» в среде со сменой рН с 1,2 на 6,8 представлены на рисунке 4.

Факторы подобия f_2 для исследуемых вариантов с оригинальным ЛС «Ранекса» во всех средах представлены в таблице 3.

Из таблицы 3 следует, что в среде с рН 1,2 растворение из таблеток всех исследуемых

вариантов эквивалентно кинетике высвобождения оригинального препарата. В среде с рН 4,5 эквивалентность высвобождения действующего вещества достигнута только в вариантах В1, В2, В5. Скорость растворения ранолазина из таблеток остальных вариантов ниже скорости растворения из таблеток ранексы. В среде со сменой рН с 1,2 на 6,8 эквивалентность достигнута для вариантов В1 и В5. В среде с рН 6,8, где растворимость ранолазина падает, эквивалентности с оригинальным ЛС удалось достичь только в варианте В1. Таким образом, даже одинаковый качественный и количественный состав таблеток генерического ЛС вариантов В2, В4, В5 с оригинальным ЛС «Ранекса» не обеспечивает эквивалентности во всех изучаемых средах. Критическими параметрами качества разрабатываемого продукта являются марка как рН-независимого, так и рН-зависимого матрицеобразующего компонента, что обусловлено особенностями их химической структуры.

Разницу в результатах в среде с рН 6,8 можно объяснить различными значениями вязкости и разным количеством остатков метакриловой кислоты у полимеров Kollicoat MAE 100P (45,8%) и Eudragit L 100-55 (48,2%).

Данные исследования вариантов В3 и В6 свидетельствуют о том, что использование в качестве рН-зависимого компонента Carbopol 974 Р замедляет высвобождение ранолазина в средах с рН 4,5, 6,8 и с 1,2 на 6,8 гораздо интенсивнее, чем остальные рН-зависимые компоненты. Это может быть обусловлено тем, что Carbopol 974 Р имеет перекрестно-сшитую структуру, следовательно, он нерастворим, что значительно замедляет стадию эрозии матрицы, которая является лимитирующей для высвобождения ранолазина в средах с высоким значением рН. Линейные полимеры Kollicoat MAE 100P и Eudragit L 100-55 хорошо растворяются при рН выше 5,5, что способствует увеличению скорости эрозии матрицы и реали-

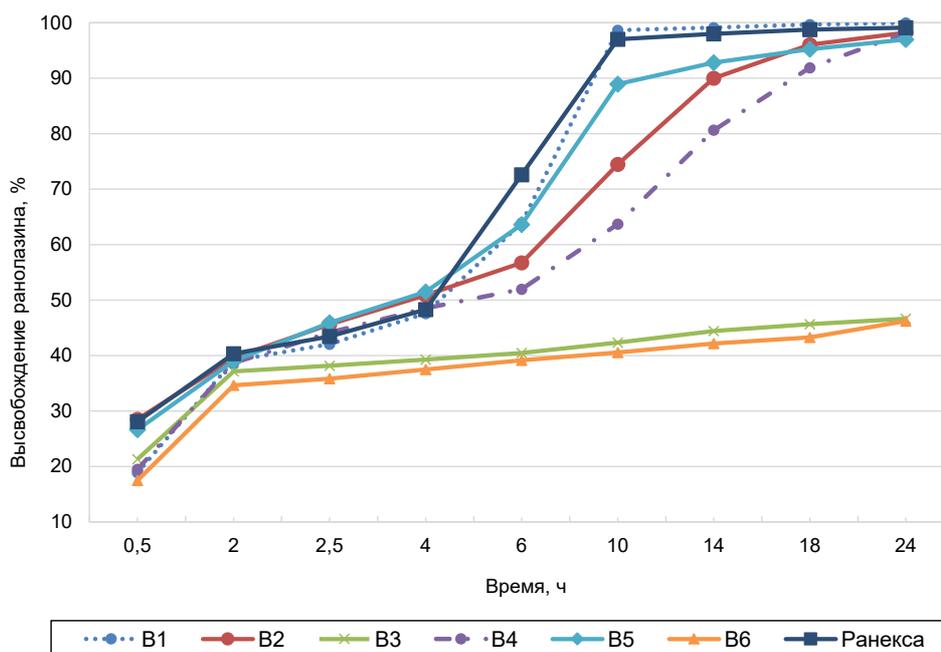


Рисунок 4 – Кинетические кривые растворения исследуемых таблеток в среде со сменой рН с 1,2 на 6,8.

Таблица 3 – Значения фактора (f2) подобию во всех средах

Вариант	рН среды			
	1,2	4,5	6,8	с 1,2 на 6,8
В1	78,63	51,58	60,05	63,54
В2	59,24	50,66	Не эквивалентно	Не эквивалентно
В3	65,04	Не эквивалентно	Не эквивалентно	Не эквивалентно
В4	73,20	Не эквивалентно	Не эквивалентно	Не эквивалентно
В5	71,55	55,77	Не эквивалентно	63,62
В6	57,12	Не эквивалентно	Не эквивалентно	Не эквивалентно

зации степени высвобождения, необходимой для достижения эквивалентности профилей высвобождения с оригинальным ЛС «Ранекса» [19].

Применение двухфакторного дисперсионного анализа позволило установить закономерности в оценке степени влияния типа рН-зависимого и рН-независимого компонента на высвобождение ранолазина в среде со сменой рН с 1,2 на 6,8. Таким образом, тип рН-зависимого и рН-независимого матрицеобразующего компонента статистически значимо ($p < 0,05$) влияет на высвобождение ранолазина во временных точках (0,5 ч, 2 ч, 6 ч, 10 ч, 14 ч, 18 ч, 24 ч), а в точках 4 ч и 2,5 ч тип рН-независимой матрицы не оказывает статистически значимого влияния ($p > 0,05$) на высвобождение ранолазина. Совместное влияние рН-зависимого и рН-независимого компонентов (для 6 различных вариантов их комбинаций) на высвобождение ранолазина распределилось следующим образом:

0,5 ч: B2>B5>B3>B4=B1>B6;

2 ч: B2=B1=B5=B4>B3>B6;

2,5 ч: B5=B2>B4>B1>B3>B6;

4 ч: B5=B2>B4>B1>B3>B6;

6 ч: B1=B5>B2>B4>B3>B6;

10 ч: B1>B5>B2>B4>B3>B6;

14 ч: B1>B5>B2>B4>B3>B6;

18 ч: B1>B2>B5>B4>B3>B6;

24 ч: B1>B2=B4>B5>B3=B6.

Знак равенства означает статистически незначимое различие между средними значениями высвобождения ранолазина.

Наибольшее замедление высвобождения ранолазина практически во всех временных точках обеспечивает производное акриловой кислоты Carbopol 974 P (варианты B6 и B3). Наименьшее влияние на высвобождение ранолазина в среде со сменой рН с 1,2 на 6,8 наблюдалось в вариантах B1, B2 и B5 с использованием в качестве рН-зависимого компонента производных метакриловой кислоты. На рисунке 5 приведен график, отображающий влияние комбинаций рН-зависимых и рН-независимых компонентов на высвобождение ранолазина в точке 6 ч.

В ходе исследования установили, что в качестве функциональных матрицеобразующих полимеров необходимо использовать комбинацию пролонгаторов варианта B1, в которой рН-независимый компонент – ГПМЦ марки Methocel E10M, а рН-зависимый компонент – сополимер метакриловой кислоты и этилакрилата марки Eudragit L 100-55. Однако, несмотря на то, что фармацевтико-технологические показатели полученных вариантов таблеток соответствуют требованиям ГФ РБ, в том числе прочность таблеток на истирание (далее по тексту истираемость) и прочность таблеток на сжатие (далее по тексту прочность), они подлежат корректировке, т. к. для используемой формы таблетки и ее крупного размера рекомендуемая прочность должна быть около 100 Н и рекомендуемая истираемость должна быть не более 0,15%. Данные рекомендации основаны на экспериментальных данных, полученных в результате обработки процесса нанесения

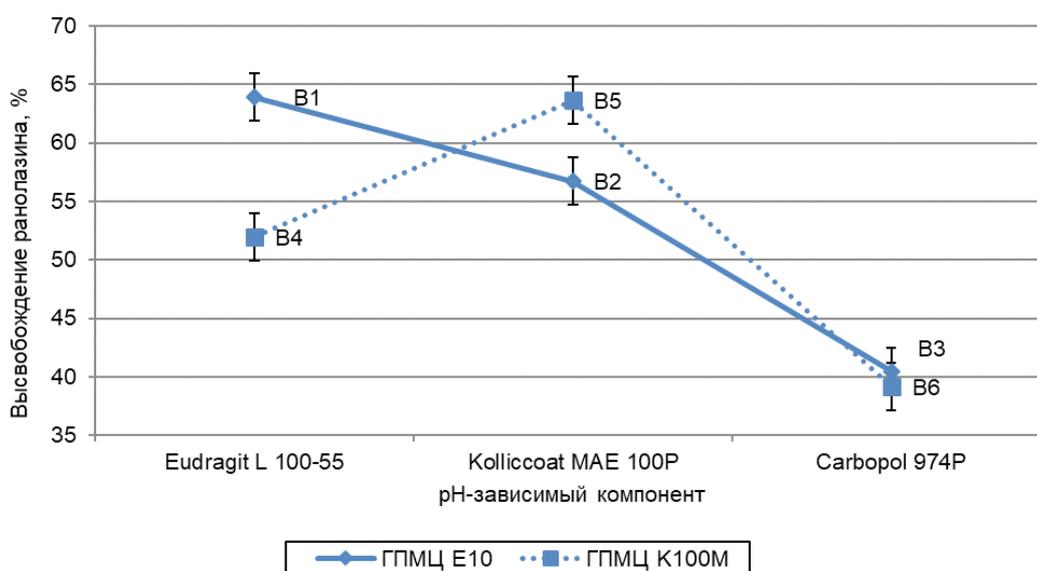


Рисунок 5 – Влияние комбинации двух типов рН-независимого компонента и трех типов рН-зависимого компонента на высвобождение ранолазина через 6ч в среде со сменой рН с 1,2 на 6,8.

пленочной оболочки на используемом типе коатора с перфорированным барабаном. Визуально полученные таблетки выглядели пористыми и «рыхлыми». Коррекция состава варианта В1 произведена за счет изменения количества МКЦ (связующего для прямого прессования), магния стеарата (лубриканта) и изменения усилия прессования. Оптимизацию окончательного состава проводили с помощью полного факторного эксперимента 2³, т. е. изменения трех факторов на двух уровнях [20].

Верхний уровень для фактора x1 (количество МКЦ в таблетке) – 80,22 мг – выбрали, исходя из массы таблетки (670±33,5) мг, т. к. при такой массе достигается максимально допустимая высота таблетки 7,1 мм для фасовки в блистеры. Нижний уровень (70,67 мг) фактора x1 соответствует массе МКЦ в таблетке оригинального ЛС «Ранекса». Верхний уровень фактора x2 (количество магния стеарата в таблетке) – 13,33 мг – выбрали исходя из содержания магния стеарата в таблетке ЛС «Ранекса», что составило 2% от массы таблетки оригинального ЛС. Нижний уровень (6,7 мг) фактора x2 выбрали на основании общих рекомендаций для содержания магния стеарата в таблетке, а именно 1% от массы таблетки. Верхний уровень фактора x3 (усилие прессования) – 2300 кг – выбрали исходя из усилия прессования, выше которого высота таблетки не изменялась. Нижний уровень (2000 кг) выбрали исходя из минимального усилия прессования лабораторного пресса, необходимого для получения прочности таблетки около 100 Н.

В таблице 4 приведена матрица планирования ПФЭ, выраженная в кодированных единицах (-1 – нижний уровень фактора, 1 – верхний уровень фактора) и средние результаты для выходных параметров (параметров оптимизации) Y1

(прочность), Y2 (истираемость).

Из таблицы 5 видно, что для проведения ПФЭ понадобилось 8 отдельных опытов и по 3 повтора каждого опыта. После проведения эксперимента с помощью критерия Кохрена установили, что для повторных опытов дисперсии однородны (Грасч<Гтабл), далее рассчитали коэффициенты уравнения регрессии, проверили их значимость с помощью критерия Стьюдента. Получили следующие уравнения регрессии для прочности таблеток Y1 (2) и для истираемости Y2 (3):

$$Y1=166,125+26,958x1+47,792x3-5,042x1x2+6,292x1x3+8,625x2x3+1,792x1x2x3 \quad (2)$$

$$Y2=0,152-0,0245x1-0,0488x3+0,0138x1x2-0,0038x1x3-0,0054x2x3+0,0029x1x2x3 \quad (3)$$

Для полученных уравнений значение критерия Фишера Грасч<Гтабл=4,491 при вероятности Р=95%, т. е. полученные математические модели (уравнения) адекватно согласуются с экспериментальными данными.

В уравнениях 2 и 3 отсутствует фактор x2 (количество магния стеарата), т.е. он не оказывает влияния на прочность таблеток и истираемость. Однако его влияние учитывается при взаимодействии с другими факторами, такими как количество МКЦ в таблетке и усилие прессования. В уравнении 2 знак коэффициентов главных эффектов (x1 и x3) положительный, а это значит, что при увеличении значения факторов (усилия прессования и содержания МКЦ) прочность таблеток растет. Максимальное влияние на прочность таблеток оказывает усилие прессования (x3), так как имеет максимальный коэффициент. Так как коэффициент парного взаимодействия (x1x3) имеет положительный знак, т. е. совместное увеличение факторов (количество МКЦ и усилие прессования) приводит к росту прочно-

Таблица 4 – Матрица планирования для ПФЭ 2³ и результаты эксперимента в средних значениях выходных параметров

№ опыта	x1	x2	x3	x1x2	x1x3	x2x3	x1x2x3	Y1, Н			Y2, %		
								y11	y12	y13	y21	y22	y23
1	-1	-1	-1	1	1	1	-1	103	100	98	0,23	0,23	0,22
2	1	-1	-1	-1	-1	1	1	154	157	155	0,16	0,17	0,16
3	-1	1	-1	-1	1	-1	1	97	93	95	0,22	0,21	0,22
4	1	1	-1	1	-1	-1	-1	124	123	121	0,19	0,2	0,2
5	-1	-1	1	1	-1	-1	1	172	168	169	0,15	0,16	0,15
6	1	-1	1	-1	1	-1	-1	243	239	246	0,06	0,07	0,06
7	-1	1	1	-1	-1	1	-1	191	189	195	0,12	0,10	0,11
8	1	1	1	1	1	1	1	254	248	253	0,09	0,08	0,09

сти. При парном взаимодействии (x_1x_2) для возрастания прочности таблеток необходимо увеличение одного из факторов (например усилия прессования) и уменьшение второго (например количества магния стеарата).

В уравнении 3 для получения качественных таблеток параметр оптимизации необходимо минимизировать (т.е. получить наименьшее значение истираемости). Знаки при коэффициентах главных эффектов отрицательные, т. е. с ростом их значения истираемость уменьшается, максимальный эффект также оказывает фактор x_3 (усилие прессования). Так как коэффициент парного взаимодействия (x_1x_3) имеет отрицательный знак, то совместное увеличение факторов (количество МКЦ и усилия прессования) приводит к уменьшению истираемости. При парном взаимодействии (x_1x_2) для уменьшения истираемости необходимо увеличение одного из факторов и уменьшение второго. Влияние тройного взаимодействия ($x_1x_2x_3$) в обоих уравнениях незначительно (судя по коэффициентам).

Основываясь на том, что оптимумов удалось достичь для выходного параметра Y_2 в варианте В6, а для Y_1 в варианте В8, то принято решение не проводить дальнейшую оптимизацию по методу «крутого восхождения». Выбирая между составами вариантов В6 и В8, приняли решение остановиться на варианте В6, т.к. при меньшем количестве магния стеарата достигается оптимум функции Y_2 (истираемость) и близкое к оптимуму значение функции Y_1 (прочность таблеток).

Вариант В6 в тесте сравнительной кинетики растворения во всех средах продемонстрировал эквивалентность с оригинальным ЛС «Ранекса».

С целью исследования влияния формы таблетки скорректированного состава варианта В6 наработаны образцы таблеток с использованием оснасток типа «облонг» с размерами (19,6x8,8) мм и (17,3x8,8) мм при одинаковом усилии прессования 2300 кг. Полученные таблетки были исследованы в тесте сравнительной кинетики растворения в целевой среде с рН 1,2. Результаты исследования приведены на рисунке 6.

На рисунке 6 видно, что из таблеток с меньшими геометрическими размерами ранолазин высвобождается медленнее, по всей вероятности, из-за меньшей площади поверхности. Соответственно, выбор формы и размеров прессинструмента также является фактором, способным повлиять на качество генерического препарата.

При масштабировании выявили значительное несоответствие между значением прочности таблеток на сжатие (238-260 Н) при усилии прессования 2300 кг, полученных на лабораторном прессе, и прочностью таблеток на сжатие (300-350 Н) при таком же усилии на промышленном таблеточном прессе. При проверке полученных таблеток в тесте сравнительной кинетики растворения в целевой среде с рН 1,2 установили, что при усилии прессования на промышленном прессе 2300 кг также значительно замедляется высвобождение ранолазина. В процессе трансфера данного технологического параметра осуществ-

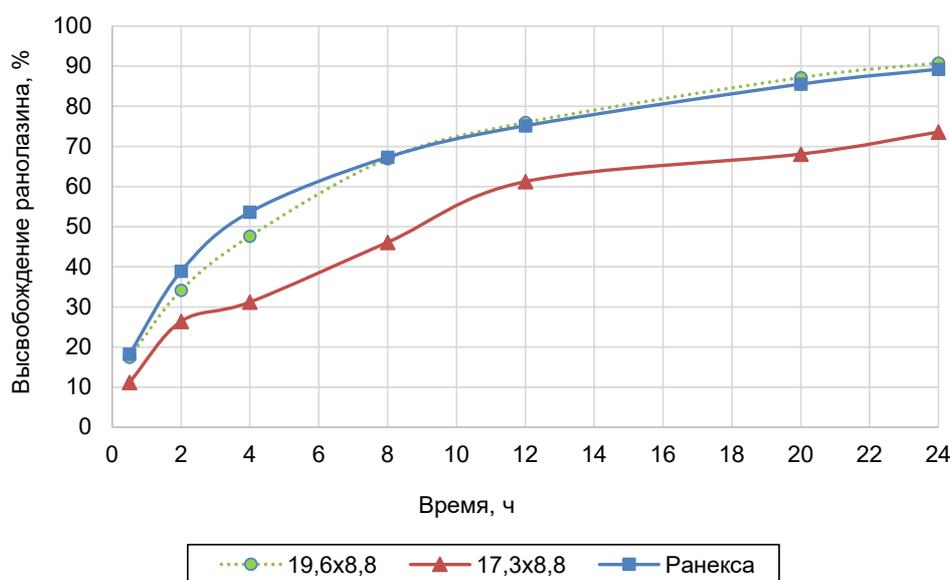


Рисунок 6 – Влияние формы таблетки на высвобождение ранолазина в среде с рН 1,2.

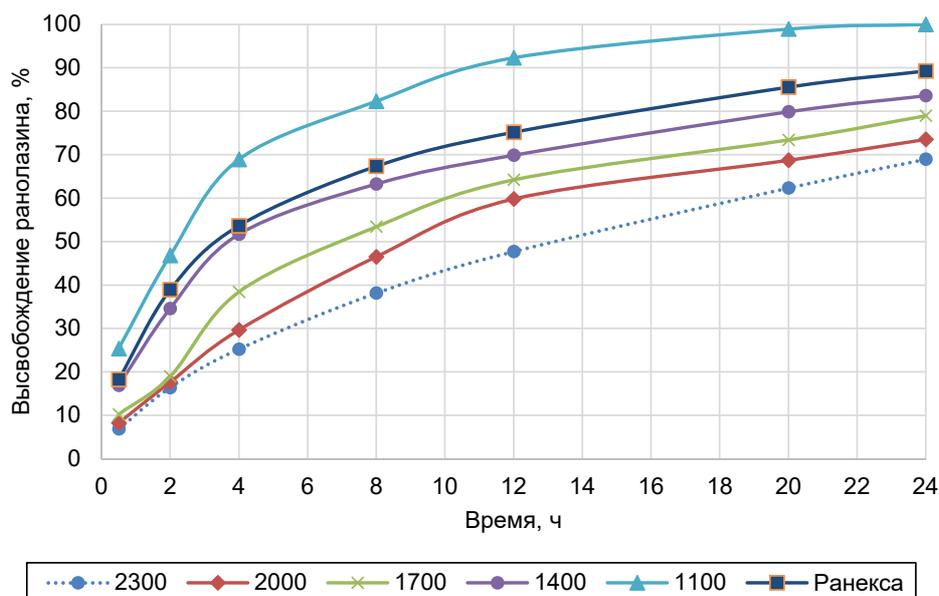


Рисунок 7 – Кривые растворения таблеток, полученных при различных усилиях прессования, в среде с рН 1,2.

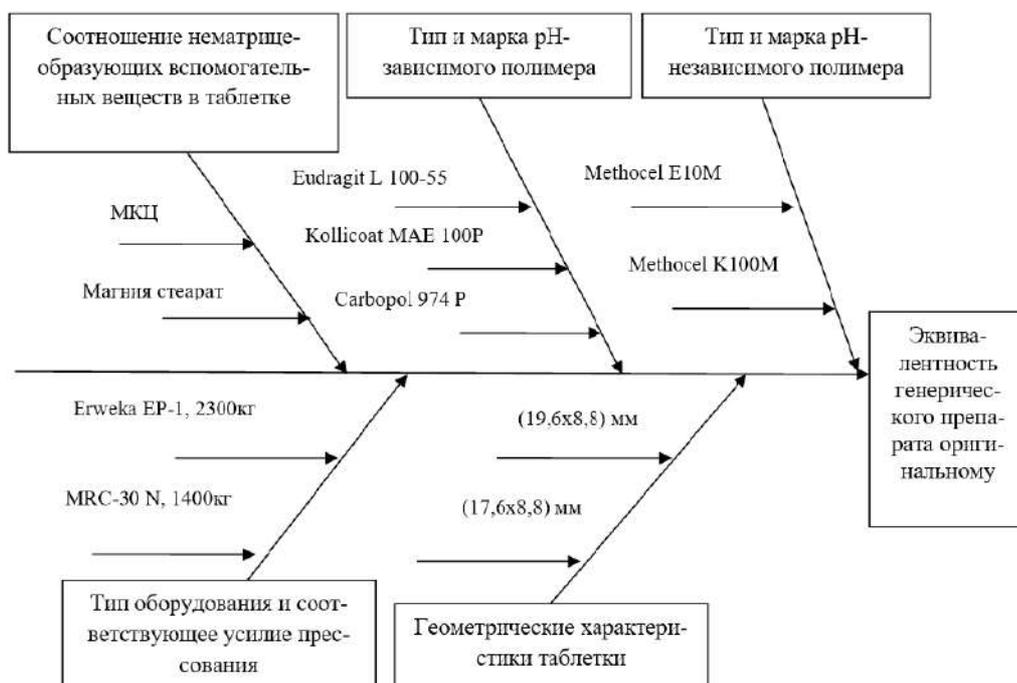


Рисунок 8 – Выявленные при фармацевтической разработке ЛС на основе ранолазина ключевые риски, визуализированные с использованием диаграммы Ишикавы.

влен подбор значений усилия прессования в диапазоне 1100-2300 кг с шагом 300 кг. Полученные таблетки исследованы в тесте сравнительной кинетики растворения в среде с рН 1,2. Результаты представлены на рисунке 7.

Результаты, представленные на рисунке 7, свидетельствуют, что с понижением значения усилия прессования скорость высвобождения ра-

нолазина увеличивается. Наиболее близкий профиль растворения с оригинальным ЛС получен при среднем усилии прессования 1400 кг.

В результате анализа полученных в ходе экспериментальной работы данных, а также с помощью причинно-следственной диаграммы Ишикавы установлены риски при разработке генерического препарата на основе ранолазина (рис. 8).

Как следует из представленных на диаграмме Ишикавы данных, главными факторами риска при разработке ЛС на основе ранолазина являются: тип и марка рН-зависимого и рН-независимого полимеров, количество нематрицеобразующих веществ в таблетке, тип оборудования и соответствующее усилие прессования (в условиях лаборатории и при масштабировании), а также геометрические характеристики таблетки.

Заключение

Исследованы закономерности высвобождения ранолазина из матричных таблеток на основе комбинаций рН-независимых и рН-зависимых полимеров различной природы и марок с помощью двухфакторного дисперсионного анализа. Установлено, что для обеспечения эквивалентности профилей высвобождения разрабатываемого генерического ЛС пролонгированного действия на основе ранолазина и оригинального ЛС «Ранекса» (в средах с рН: 1,2, 4,5, 6,8 и со сменой значения рН среды с 1,2 на 6,8) необходимо применение комбинации рН-независимого полимера (Methocel E10M) и рН-зависимого полимера (Eudragit L 100-55). Оптимизирован состав нефункциональных эксципиентов с помощью полного факторного эксперимента 2³. В ходе фармацевтической разработки выявлены следующие риски для качества генерического ЛС на основе ранолазина: тип и марка рН-зависимого и рН-независимого полимеров матрицы, количество нематрицеобразующих вспомогательных веществ в таблетке, тип оборудования и соответствующее усилие прессования, а также геометрические характеристики таблетки. Такие риски, как тип используемого таблеточного пресса и соответствующее усилие прессования, оказались критическими на этапе масштабирования.

Литература

1. Дмитриева, И. С. Лекарственное средство ранолазин в терапии стабильной стенокардии / И. С. Дмитриева, Е. В. Кравченко // Кардиология в Беларуси. – 2017. – Т. 9, № 4. – С. 721–735.
2. Preparation and evaluation of osmotic tablets of ranolazine / N. Sahithi [et al.] // Int. J. Inn. Pharm. Sci. Res. – 2015. – Vol. 3, N 8. – P. 1125–1138.
3. Deepika, D. Formulation and evaluation of film coated ranolazine sustained release matrix tablets / D. Deepika // Int. J. Appl. Pharm. Sci. – 2015. – Vol. 2, N 5. – P. 38–53.
4. Shah, P. Optimization of formulation variables of ranolazine extended-release tablets by 32 full factorial design / P. Shah, N. Bhargavi, Z. Chandarana // Pharmagene. – 2013. – Vol. 1, N 2. – P. 1–9.
5. Инструкция по медицинскому применению лекарственного средства Ранекса [Электронный ресурс] / М-во здравоохранения Республики Беларусь. – 2016. – Режим доступа: https://www.rceth.by/NDfiles/instr/9720_11_17_s.pdf. – Дата доступа: 18.08.2019.
6. Ранекса – официальная инструкция по применению [Электронный ресурс] / Medi.ru. Подробно о лекарствах : [сайт]. – 2015. – Режим доступа: https://medi.ru/instrukciya/raneksa_6858/. – Дата доступа: 18.08.2019.
7. Система качества и надлежащие практики в фармации : учеб. пособие / Ю. В. Подпружикиков [и др.]; под общ. ред. В. П. Черных, Ю. В. Подпружикикова. – Киев : СИК ГРУП УКРАИНА, 2017. – 652 с.
8. Ляпунов, Н. А. Современная методология фармацевтической разработки лекарственных препаратов / Н. А. Ляпунов, Е. П. Безуглая // Фармацевт. отрасль. – 2013. – № 1. – С. 79–86.
9. ICH Harmonised tripartite guideline. Pharmaceutical development Q8 (R2) [Electronic resource] : international conference on harmonisation of technical requirements for registration of pharmaceuticals for human use. – 2009. – Mode of access: https://www.ich.org/fileadmin/Public_Web_Site/ICH_Products/Guidelines/Quality/Q8_R1/Step4/Q8_R2_Guideline.pdf. – Date of access: 18.08.2019.
10. Гильдеева, Г. Н. Концепция Quality-by-design как ключевой элемент в обеспечении качества лекарственных препаратов / Г. Н. Гильдеева, А. В. Белостоцкий // Ремедиум. – 2017. – № 3. – С. 54–58.
11. Оценка закономерностей высвобождения ранолазина из рН-независимых полимерных матриц / В. Б. Климашевич [и др.] // Вестн. фармации. – 2018. – № 2. – С. 24–36.
12. Development of extended release matrix tablets of ranolazine containing polyacrylic and ethylcellulose polymers / J. Bidada [et al.] // Der Farm. Letter. – 2011. – Vol. 3, N 4. – P. 215–226.
13. Nollenberger, K. Poly(meth)acrylate-based coatings / K. Nollenberger, J. Albers // Int. J. Pharm. – 2013 Dec. – Vol. 457, N 2. – P. 461–469.
14. Technical information: Kollicoat MAE 100-55, Kollicoat MAE 100 P [Electronic resource]. – 2016. – Mode of access: http://transchemcorp.com/wp-content/uploads/2017/09/Technical-Information_Kollicoat-MAE-100-P.pdf. – Date of access: 18.08.2019.
15. Государственная фармакопея Республики Беларусь (ГФ РБ II) : в 2 т. / под общ. ред. А. А. Шерякова. – Молодечно : Победа, 2012. – Т. 1 : Общие методы контроля качества лекарственных средств. – 1220 с.
16. Выдача регистрационных удостоверений лекарственных препаратов с акцентом на многоисточниковые (генерические) препараты [Электронный ресурс] : рук. для нац. регулятор. органов по обращению лекарств. средств / Союз проф. фармацевт. организаций. – 2-е изд. – 2011. – Режим доступа: http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/44576/9789241501453_rus.pdf;jsessionid=BE0D3A00B7052BA9AE18A3026E758EFC?sequence=8. – Дата доступа: 18.08.2019.
17. Об утверждении Правил проведения исследований биоэквивалентности лекарственных препаратов в рамках Евразийского экономического союза [Электронный ре-

курс] : решение № 85, 03.11.2016 г. / Совет Евразийской эконом. комис. – 2016. – Режим доступа: https://docs.eaeunion.org/docs/ru-ru/01411942/cncd_21112016_85. – Дата доступа: 30.10.2018.

18. Комментарии к Руководству Европейского союза по надлежащей практике производства лекарственных средств для человека и применения в ветеринарии / под ред. С. Н. Быковского [и др.]. – 2-е изд., перераб. и доп. – Москва : Перо, 2016. – 496 с.
19. Анурова, М. Н. Обзор современных гелеобразователей

в технологии лекарственных форм / М. Н. Анурова, Е. О. Бахрушина, Н. Б. Демина // Хим.-фармацевт. журн. – 2015. – Т. 49, № 9. – С. 39–46.

20. Планирование эксперимента в научных исследованиях : метод. указания к лаборатор. работам / М-во образования и науки Российской Федерации, Юж.-Рос. гос. политехн. ун-т им. М. И. Платова ; сост.: А. М. Ланкин, М. В. Ланкин, Д. В. Шайхутдинов. – Новочеркасск : ЮРГ-ПУ им. М. И. Платова, 2015. – 42 с.

Поступила 05.04.2019 г.

Принята в печать 25.07.2019 г.

References

1. Dmitrieva IS, Kravchenko EV. The drug ranolazine in the treatment of stable angina pectoris. *Kardiologiya Belarusi*. 2017;9(4):721-35. (In Russ.)
2. Sahithi N, Prathyusha A, Uma Maheshwara Rao V. Preparation and evaluation of osmotic tablets of ranolazine. *Int J Inn. Pharm Sci Res*. 2015;3(8):1125-38.
3. Deepika D. Formulation and evaluation of film coated ranolazine sustained release matrix tablets. *Int J Appl Pharm Sci*. 2015;2(5):38-53.
4. Shah P, Bhargavi N, Chandarana Z. Optimization of formulation variables of ranolazine extended-release tablets by 32 full factorial design. *Pharmagene*. 2013;1(2):1-9.
5. М-во здравookhraneniia Respubliki Belarus'. Instructions for the medical use of the drug Ranex [Elektronnyi resurs]. 2016. Rezhim dostupa: https://www.rceth.by/NDfiles/instr/9720_11_17_s.pdf. Data dostupa: 18.08.2019. (In Russ.)
6. Raneksa - official instructions for use [Elektronnyi resurs]. Medi.ru. Podrobno o lekarstvakh: [sait]. 2015. Rezhim dostupa: https://medi.ru/instrukciya/raneksa_6858/. Data dostupa: 18.08.2019. (In Russ.)
7. Podpruzhnikov YuV, Nemchenko AS, Andryukova LN, Gumenyuk NI, Chernykh VP, Podpruzhnikov YuV, red. Quality System and Good Practices in Pharmacy: ucheb. posobie. Kiev, Ukraine: CIK GRUP UKRAINA; 2017. 652 p. (In Russ.)
8. Lyapunov NA, Bezuglaya EP. Modern methodology for pharmaceutical drug development. *Farmatsevt Otrast'*. 2013;(1):79-86. (In Russ.)
9. ICH Harmonised tripartite guideline. Pharmaceutical development Q8 (R2) [Electronic resource]: international conference on harmonisation of technical requirements for registration of pharmaceuticals for human use. 2009. Available from: https://www.ich.org/fileadmin/Public_Web_Site/ICH_Products/Guidelines/Quality/Q8_R1/Step4/Q8_R2_Guideline.pdf [Accessed 18 Aug 2019].
10. Gil'deeva GN, Belostotskiy AV. Quality-by-design concept as a key element in ensuring the quality of medicines. *Remedium*. 2017;(3):54-8. (In Russ.)
11. Klimashevich VB, Kazyuchits OA, Zhebentyaev A, Il'yanok GA, Gudovich VV, Nasennikova EE. Evaluation of the patterns of release of ranolazine from pH-independent polymer matrices. *Vestn Farmatsii*. 2018;(2):24-36. (In Russ.)
12. Bidada J, Gonjari I, Bhusari A, Raut C, Dhule A. Development of extended release matrix tablets of ranolazine containing polyacrylic and ethylcellulose polymers. *Der Farm Letter*. 2011;3(4):215-26.
13. Nollenberger K, Albers J. Poly(meth)acrylate-based coatings. *Int J Pharm*. 2013 Dec;457(2):461-9. doi: 10.1016/j.ijpharm.2013.09.029
14. Technical information: Kollicoat MAE 100-55, Kollicoat MAE 100 P [Electronic resource]. 2016. Available from: http://transchemcorp.com/wp-content/uploads/2017/09/Technical-Information_Kollicoat-MAE-100-P.pdf [Accessed 18 Aug 2019].
15. Sheryakov AA, red. State Pharmacopoeia of the Republic of Belarus (GF RB II): v 2 t. Molodechno, RB: Pobeda; 2012. T 1: General drug quality control methods. 1220 p. (In Russ.)
16. Soiuz prof farmatsevt organizatsii. The issuance of registration certificates of drugs with a focus on multi-source (generic) [Elektronnyi resurs]: ruk dlia nats regulator organov po obrashcheniiu lekarstv sredstv. 2-e izd. 2011. Rezhim dostupa: http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/44576/9789241501453_rus.pdf;jsessionid=BE0D3A00B7052BA9AE18A3026E758EFC?sequence=8 Data dostupa: 18.08.2019. (In Russ.)
17. Sovet Evraziiskoi ekonom komis. On approval of the Rules for conducting bioequivalence studies of drugs within the framework of the Eurasian Economic Union [Elektronnyi resurs]: reshenie № 85, 03.11.2016 g. 2016. Rezhim dostupa: https://docs.eaeunion.org/docs/ru-ru/01411942/cncd_21112016_85 Data dostupa: 18.08.2019. (In Russ.)
18. Bykovskiy SN, Vasilenko IA, Kempbell DR, Maksimov SV, Meshkovskiy AP, Neznanov VP, i dr. Comments on the European Union Good Practice Guidelines for the Manufacture of Medicinal Products for Human Use and Veterinary Medicine. 2-e izd pererab i dop. Moscow, RF: Pero; 2016. 496 p. (In Russ.)
19. Anurova MN, Bakhrushina EO, Demina NB. Overview of modern gellants in the technology of dosage forms. *Khim-farmatsevt Zhurn*. 2015;49(9):39-46. (In Russ.)
20. М-во obrazovaniia i nauki Rossiiskoi Federatsii, Iuzh-Ros gos politekhn un-t im MI Lankin AM, Lankin MV, Shaykhtudinov DV, sost. Research Design: metod ukazaniia k laborator robotam. Novochoerkassk, RF: IuRGPU im MI Platova; 2015. 42 p. (In Russ.)

Submitted 05.04.2019

Accepted 25.07.2019

Сведения об авторах:

Климашевич В.Б. – ведущий технолог лаборатории технологии готовых лекарственных форм отдела научных исследований и разработок, Республиканское производственное унитарное предприятие «АКАДЕМФАРМ»;

Казючиц О.А. – к.б.н., заместитель директора по научной работе, Республиканское производственное унитарное предприятие «АКАДЕМФАРМ»;

Жебентяев А.И. – д.ф.н., профессор, заведующий кафедрой токсикологической и аналитической химии, Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет.

Гудович В.В. – заместитель начальника лаборатории фармацевтических и фармакологических исследований, Республиканское производственное унитарное предприятие «АКАДЕМФАРМ»;

Насенникова Е.Е. – начальник лаборатории технологии готовых лекарственных форм, Республиканское производственное унитарное предприятие «АКАДЕМФАРМ».

Information about authors:

Klimashevich V.B. – main technologist of the laboratory of finished dosage forms technology of the scientific research and development department, Republican Unitary Enterprise «ACADEMPHARM»;

Kazyuchits O.A. – Candidate of Biological Sciences, deputy director for scientific work, Republican Unitary Enterprise «ACADEMPHARM»;

Zhebentyaev A.I. – Doctor of Pharmaceutical Sciences, professor, head of the Chair of Toxicological & Analytic Chemistry, Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University;

Gudovich V.V. – deputy head of the laboratory of pharmaceutical & pharmacologic researches, Republican Unitary Enterprise «ACADEMPHARM»;

Nasennikova E.E. – head of the laboratory of finished dosage forms technology, Republican Unitary Enterprise «ACADEMPHARM».

Адрес для корреспонденции: Республика Беларусь, 223039, Минский район, агр.г. Хатежино, ул. Мира, 17а, кв. 61. E-mail: alkiona9@mail.ru – Климашевич Виктория Борисовна.

Correspondence address: Republic of Belarus, 223039, Minsk district, agrogorodok Khatezhino, 17a Mira str., 61. E-mail: alkiona9@mail.ru – Viktoriya B. Klimashevich.

ЭТИЧЕСКИЕ КОМИТЕТЫ И ИХ РОЛЬ В СФЕРЕ МЕДИЦИНСКИХ ТЕХНОЛОГИЙ

ЛОЛЛИНИ В.А., ВЕЛИЧИНСКАЯ О.Г., ДИКАРЕВА Е.А.

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

Вестник ВГМУ. – 2019. – Том 18, №4. – С. 113-118.

ETHICS COMMITTEES AND THEIR ROLE IN THE SPHERE OF MEDICAL TECHNOLOGIES

LOLLINI V.A., VELICHINSKAYA O.G., DIKAREVA E.A.

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

Vestnik VGMU. 2019;18(4):113-118.

Резюме.

Во многих учреждениях здравоохранения Беларуси создаются этические комитеты. Что заставляет руководителей этих организаций создавать это новое структурное подразделение? Медицинская наука – одна из самых развивающихся наук в современном мире. Ежегодно открываются новые лекарственные средства, способы диагностики заболеваний, методы лечения. Проведение исследований в сфере медицинских технологий проводится в соответствии с международными согласительными документами потому, что главное правило медицины – «не навреди». В соответствии с мировыми тенденциями для контроля за выполнением биомедицинских исследований в организациях здравоохранения создаются независимые этические комитеты.

Этические комитеты осуществляют соответствующую экспертизу проводимых исследований, а также выполняют контролирующую функцию и дают рекомендации в сложных конфликтных ситуациях.

Ключевые слова: этический комитет, биомедицинские исследования, экспертиза, осуществлять контроль, давать рекомендации, конфликтные ситуации.

Abstract.

Many health care institutions in Belarus are creating ethical committees. What makes the authorities of these organizations create this new structural unit? Medical science is one of the most developing sciences in the modern world. Every year new drugs, methods of diagnosing diseases and their treatment are discovered. Research in the field of medical technology is carried out in accordance with the international agreement documents because the main rule of medicine is «do no harm». In conformity with global trends, independent ethical committees are being established in health care organizations to monitor the conducted biomedical researches.

Ethical committees carry out appropriate expertise of the researches done, as well as exercise control and give recommendations in complex conflict situations.

Key words: ethics committee, biomedical researches, expertise, to exercise control, to give recommendations, conflict situations.

Медицина представляет собой важнейшую сферу жизни человека. Главная цель медицины – сохранение и укрепление здоровья, продление жизни человека. В последние десятилетия медицинская наука достигла огромных успехов в диагностике и лечении трудноизлечимых либо неизлечимых заболеваний, способна проникать

в глубинные процессы организма человека, геномный аппарат человека, влиять на репродуктивные процессы в организме, процесс умирания и т.д. [1]. Развитие медицины невозможно без клинических исследований и связанных с ними правовых и этических вопросов. Большинство исследований в медицине проводится с участием

людей – так называемые клинические испытания. Они могут быть не только с использованием лекарственных средств, дезинфицирующих растворов, но и с испытанием методов лабораторной и инструментальной диагностики, оборудования, паллиативной помощи, психотерапевтических приемов и лечебных манипуляций [2].

Научно-технические разработки в области медицины расширили границы её возможностей и оказали свое влияние на расширение понятий пользы и вреда для человека, что способствовало развитию биоэтики [3]. Данная наука развивается гораздо активнее, чем юриспруденция [4]. Проведение новых клинических исследований сопряжено с рядом вопросов этического и юридического характера. Эти вопросы обусловлены тем, что объектом изучения часто является человек. Допустимы ли эксперименты на людях? Как соблюсти принципы конфиденциальности и снизить вероятный риск для здоровья пациента? Как проводить биомедицинские исследования на здоровых людях? Можно ли проводить исследования с участием детей, психически больных пациентов? Как не допустить возможные злоупотребления исследователями при проведении научных экспериментальных испытаний [5]? Для повышения общественного доверия к проводимым научным исследованиям во всем мире активно создаются независимые этические комитеты. Комитеты по этике начали создаваться только тогда, когда общество осознало возможность угрозы со стороны научно-технического прогресса в области медицины на здоровье и продолжительность жизни человека. Только после появления теоретически обоснованных принципов моральной и этической регуляции медицинской науки – биоэтики, были созданы и успешно начали выполнять свою функцию комитеты по этике. Таким образом получила свое развитие новая наука – биоэтика [6].

Этический комитет – это независимая, мультидисциплинарная организация, в состав которой входят лица медицинских и немедицинских специальностей, призванная содействовать соблюдению прав и интересов участников клинических исследований, этических норм при их проведении в соответствии с правилами проведения качественных клинических исследований (Good Clinical Practice for trials on medical products in European Community (III/3976/-EN, July 1991).

Мультидисциплинарность этических комитетов обеспечивается включением в их состав

представителей разных профессий, таких как: научные медицинские работники, врачи, юристы, священнослужители, социальные работники и представители других профессий. При проведении научных исследований порой возникает сложный комплекс социальных, этических, психологических и юридических проблем, решение которых является крайне важным [7]. Представители немедицинских специальностей защищают интересы испытуемых и всего населения. Это обязательный компонент этических комитетов, который и отличает исследовательские этические комитеты от других комиссий, занимающихся оценкой проводимых исследований [8].

Для предотвращения конфликта интересов этические комитеты должны быть независимые.

Основные задачи этического комитета:

- независимое и объективное проведение этической экспертизы материалов клинических испытаний с целью профилактики вероятных негативных последствий данных испытаний;
- консультирование по этическим проблемам при проведении клинических испытаний [9];
- уточнение целесообразности, предполагаемой безопасности и эффективности проведения клинических испытаний;
- подготовка заключений о рациональности проведения клинических испытаний [10].

Основные принципы этической экспертизы планируемых научных исследований включают: оценку ожидаемой пользы; оценку и минимизацию рисков при проведении исследования; анализ соотношения пользы и риска; рассмотрение процесса получения информированного согласия у испытуемых; подбор групп пациентов, участвующих в исследовании, и их стимулирование к участию в эксперименте [11].

Медицинский риск – это вероятность опасности, неудачи, неблагоприятного исхода в надежде на благополучный исход при оказании необходимой медицинской помощи пациенту. Учитывая, что интересы и благо отдельного человека преобладают над интересами общества или науки в целом (Конвенция о правах человека и биомедицине Овьедо), оценка вероятных рисков в ходе проводимых испытаний должна осуществляется исследователем в интересах каждого отдельного участника экспериментальной группы. Самый главный этический принцип каждого биомедицинского исследования – это минимизация индивидуального медицинского риска у каждого участника проводимого эксперимента.

Не должно служить основанием для продления экспериментального исследования даже вероятные преимущества проводимого медицинского эксперимента над риском для физического и психического здоровья лиц, участвующих в экспериментах. Таким образом, нельзя допустить никакие вероятные риски для здоровья и жизни пациента: физический ущерб, психологический и психический ущерб, разглашение медицинской тайны, вторжение в частную жизнь, экономический и социальный ущерб, причиняемые вследствие различных медицинских манипуляций или вследствие развития побочного действия лекарственных средств. К огромному сожалению, ряд исследователей считает тормозом развития науки и техники в медицине подобные этические ограничения и запреты [12].

Выделяют следующие типы комитетов по этике: локальные (в учреждениях, на базе которых проводятся биомедицинские исследования); региональные (действующие в рамках какого-либо района или области или ведомства (академия наук); центральные (национальные), действующие на территории всей страны (в Республике Беларусь Национальный комитет по биоэтике) [13]. Не всегда отношения между комитетами по этике строго иерархичны: часто большую или меньшую степень самостоятельности имеют комитеты нижележащих уровней [14].

Для выполнения поставленных задач (содействие развитию науки в университете, повышение качества проводимых диссертационных работ и других научных исследований, координация профессиональной деятельности в области научных испытаний) приказом ректора в июле 2011 года в Витебском государственном медицинском университете был создан независимый комитет по этике клинических испытаний. Комитет по этике функционирует независимо от финансово-экономических, административно-управленческих, коллегияльных и ведомственных влияний.

Любое вмешательство в здоровье пациента должно быть подкреплено законодательно-правовой базой, которая обеспечивает защиту прав пациента и гражданина, чем являются общегосударственные и международные документы [15, 16]. Поэтому комитет по этике Витебского государственного медицинского университета функционирует в соответствии с:

1) Хельсинской Декларацией Всемирной медицинской ассоциации «Этические принципы проведения медицинских исследований с участи-

ем человека в качестве субъекта» (первый международный документ, определяющий этические принципы и нормы при проведении медицинских исследований на человеке, который неоднократно пересматривался; последний раз в 2013 году);

2) действующим законодательством Республики Беларусь (конституцией Республики, законом Республики Беларусь «О здравоохранении»), а также международными договорами, участницей которых является Республика Беларусь (Всеобщая декларация прав человека 1948 г., Международный пакт о гражданских и политических правах 1966 г., Международный пакт об экономических, социальных и культурных правах 1966 г., и др.);

3) нормативными документами Министерства здравоохранения Республики Беларусь;

4) рекомендациями Комитета по этике, проводящего этическую экспертизу биомедицинских исследований ВОЗ и EF GCP;

5) Положением о независимом этическом комитете Витебского государственного медицинского университета.

Не все международные согласительные документы по биоэтическим вопросам обладают юридической силой в различных государствах. Если государство принимает тот или иной согласительный документ, это влечёт за собой обязательное соблюдение его правил и норм в законодательстве принявшего его государства. Например, Беларусь до настоящего времени не присоединилась к Конвенции по правам человека в биомедицине, поэтому пакет законов в области медицинского права у нас носит весьма условный характер.

При выполнении поставленных задач для обеспечения качества проводимой этической экспертизы комитет по этике может взаимодействовать и заключать соглашения о сотрудничестве в области развития этической экспертизы с другими этическими комитетами и заинтересованными медицинскими организациями. Комитет по этике также имеет право заключать необходимые договоры о проведении этической экспертизы планируемых клинических испытаний для других организаций: медицинских вузов, научно-исследовательских центров и лечебных учреждений.

Необходимо выделить несколько функций комитета по этике:

1. Получение и рассмотрение не позднее 30 дней материалов исследований (протоколы исследования; характеристика исследователя и документы, подтверждающие его квалифика-

цию; информация о медицинских учреждениях, в которых будет проведено клиническое исследование; форма информированного согласия и при необходимости дополнительные документы. Необходимым предварительным условием любого медицинского исследования и медицинского вмешательства на людях является получение добровольного информированного согласия пациента или его законного представителя на основании предоставленной исследователем в доступной форме полной информации о планируемом исследовании – его целях, задачах и связанном с ними риске, а также о предполагаемых результатах исследования [17].

2. Подготовка письменного заключения с указанием одного из возможных решений: одобрение клинического исследования; отказ в одобрении на проведение клинического исследования; требование о внесении изменений или дополнений в документацию, предоставленную в комитет по этике; приостановление или отмена данного ранее разрешения на проведение клинического испытания.

В пятидневный срок исследователь информируется о решении, принятом этическим комитетом. Комитет по этике не обладает полномочиями запретить проведение клинического испытания, но если его рекомендации не были приняты во внимание исследователем или клиническое испытание проводится без ведома комитета по этике, председатель комитета по этике обязан сообщить об этих нарушениях руководителю учреждения, где проводится клиническое испытание, а также в соответствующие контрольно-разрешительные органы (в частности в ГУП «Республиканский центр экспертиз и испытаний в здравоохранении») [18].

3. Оценка квалификации исследователя.

4. При проведении этической экспертизы все члены комитета по этике должны соблюдать принципы конфиденциальности в отношении всей полученной информации о проводимых клинических испытаниях.

5. Этический комитет может рассматривать суммы выплат и порядок их начисления испытуемым, чтобы убедиться в отсутствии принуждения и необоснованной заинтересованности испытуемых.

Заключение

В современном мире медицина подошла к новому периоду в своем развитии, который при-

зван не только обеспечивать увеличение продолжительности жизни населения, но также и повышать качество жизни человека в целом, что требует пересмотра ранее существующих этических норм и оценок [3].

Проведение клинических исследований невозможно без этической оценки данных испытаний. Для этого широко создаются этические институты – этические комитеты, которые проводят соответствующую экспертизу, а также выполняют контролирующие функцию и дают рекомендации в сложных конфликтных ситуациях [19].

Научная ценность медицинских открытий должна быть сопоставима с требованиями стандартов этики, которая обеспечивает защиту прав пациента и его безопасность при участии в медицинских исследованиях [3].

Литература

1. Риффель, А. В. Избранные вопросы медицинского права / А. В. Риффель. – Москва : Акад. естествознания, 2008. – 107 с.
2. Сабурова, В. И. Этическая экспертиза клинических исследований / В. И. Сабурова // Материалы 2-й международной конференции «Фармацевтическая биоэтика». – Москва, 2003. – С. 98–100.
3. Маккиарини, П. Особенности этической экспертизы при планировании и проведении клинических исследований в регенеративной медицине / П. Маккиарини, Е. Кондратьева // Клеточ. трансплантология и тканевая инженерия. – 2011. – Т. 6, № 4. – С. 111–118.
4. Романовский, Г. Б. Проблемы становления медицинского права / Г. Б. Романовский // Соц.-полит. науки. – 2012. – № 3. – С. 75–77.
5. Стефанов, А. В. Биоэтические проблемы клинических испытаний лекарственных средств [Электронный ресурс] / А. В. Стефанов, В. И. Мальцев // Аптека. – 2001. – № 38. – Режим доступа: <https://www.apteka.ua/article/12239>. – Дата доступа: 19.08.2019.
6. Воробьева, Л. В. Медицинское право : учеб. пособие / Л. В. Воробьева. – Тамбов : Изд-во ГОУ ВПО ТГТУ, 2010. – 80 с.
7. Поликарпов, В. С. Современная культура и генная инженерия: философские размышления / В. С. Поликарпов, Ю. Г. Волков, В. А. Поликарпова. – Ростов н/Д. : Изд-во РГУ, 1991. – 120 с.
8. Рамазанова, Б. А. Руководство по прохождению этической экспертизы научно-исследовательской работы «Локальная этическая комиссия: роль, полномочия и процедуры» / Б. А. Рамазанова, Т. А. Кудайбергенова, Л. Т. Ералиев. – Алматы, 2015. – 99 с.
9. Хенк тен Хаве. Деятельность ЮНЕСКО в области биоэтики / Хенк тен Хаве // Казан. мед. журн. – 2008. – Т. 89, № 4. – С. 377–382.
10. Риффель, А. В. Этический комитет – проблемы становления [Электронный ресурс] / А. В. Риффель // Журн. науч. публ. аспирантов и докторантов. – Режим доступа:

<http://jurnal.org/articles/2008/med1.html>. – Дата доступа: 19.08.2019.

11. Косарев, В. В. Этика биомедицинских исследований: проблемы и решения / В. В. Косарев, С. А. Бабанов // Мед. альм. – 2009. – № 4. – С. 41–45.
12. Соколыч, В. Н. Этические аспекты клинических исследований / В. Н. Соколыч // Науч. тр. Респ. ин-та высш. шк. – 2015. – № 14. – С. 278–284.
13. Национальные и локальные комитеты по биоэтике: опыт Центральной и Восточной Европы : материалы междунар. науч. конф. по биоэтике / под ред. Т. В. Мишаткиной [и др.]. – Минск, 2006. – 180 с.
14. Сушко, Н. А. Этический комитет: цели и задачи [Электронный ресурс] / Н. А. Сушко // Биоэтика: реальность жизни. Человек и его образ в современной медицине и философской антропологии : учеб.-метод. пособие / Рос. гос. мед. ун-т, Каф. биомед. этики. – Москва, 2001. – Режим доступа: <http://rsmu.ru/4773.html>. – Дата доступа: 19.08.2019.
15. Клинические исследования на человеке: вопросы защиты прав и свобод человека и гражданина / Д. О. Ермолаев [и др.] // Современ. проблемы науки и образования [Электронный ресурс]. – 2016. – № 3. – Режим доступа: <http://www.science-education.ru/ru/article/view?id=24728>. – Дата доступа: 19.08.2019.

16. Peel, M. Human rights and medical ethics / M. Peel // J. R. Soc. Med. – 2005 Apr. – Vol. 98, N 4. – P. 171–173.
17. Саяпина, С. М. Информированное добровольное согласие на медицинское вмешательство: проблемы содержания и процесса оформления / С. М. Саяпина // Мед. право: теория и практика. – 2018. – Т. 4, № 1. – С. 43–47.
18. Методические рекомендации Министерства здравоохранения Республики Беларусь от 21.04.2000 № 57-0004 «Порядок организации и работы комитета по этике» [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://pravo.levonevsky.org/bazaby/org337/basic/text0461.htm>. – Дата доступа: 19.08.2019.
19. Мазур, С. Ю. Процессуальные кодексы этических комитетов психоаналитических обществ: структура, функции, генезис [Электронный ресурс] / С. Ю. Мазур // Журн. практ. психологии и психоанализа. – 2014. – № 4. – Режим доступа: <http://psyjournal.ru/articles/processualnye-kodeksy-eticheskikh-komitetov-psihoanaliticheskikh-obshchestv-struktura-funkcii>. – Дата доступа: 19.08.2019.

Submitted 05.04.2019

Accepted 25.07.2019

References

1. Riffel AV. Selected issues of medical law. Moscow, RF: Akad estestvoznaniia; 2008. 107 p. (In Russ.)
2. Saburova VI. Eticheskaja ekspertiza klinicheskikh issledovanii. V: Materialy 2-i mezhduнародnoi konferentsii «Farmatsevticheskaja bioetika». Moscow, RF; 2003. P. 98-100. (In Russ.)
3. Makkiarini P, Kondrat'yeva E. Features of ethical examination in the planning and conduct of clinical research in regenerative medicine. Kletoch Transplantologija Tkanevaia Inzheneriia. 2011; (4):111-8. (In Russ.)
4. Romanovskiy GB. Problems of the formation of medical law. Sots-polit Nauki. 2012;(3):75-7. (In Russ.)
5. Stefanov AV, Mal'tsev VI. Bioethical problems of clinical trials of drugs [Elektronnyi resurs]. Apteka. 2001;(38). Rezhim dostupa: <https://www.apteka.ua/article/12239>. Data dostupa: 19.08.2019.
6. Vorob'yeva LV. Medical law: ucheb posobie. Tambov, RF: Izd-vo GOU VPO TGUTU; 2010. 80 p. (In Russ.)
7. Polikarpov VS, Volkov YuG, Polikarpova VA. Contemporary Culture and Genetic Engineering: Philosophical Reflections. Rostov on Don: Izd-vo RGU; 1991. 120 p. (In Russ.)
8. Ramazanova BA, Kudaybergenova TA, Eraliev LT. Guidelines for ethical review of the research work «Local Ethical Commission: Role, Powers and Procedures». Almaty; 2015. 99 p. (In Russ.)
9. Khenk ten Khave. UNESCO's bioethics activities. Kazan Med Zhurn. 2008;89(4):377-82. (In Russ.)
10. Riffel AV. Ethics Committee – Issues of Formation [Elektronnyi resurs]. Zhurn Nauch Publ Aspirantov Doktorantov. Rezhim dostupa: <http://jurnal.org/articles/2008/med1.html>. Data dostupa: 19.08.2019. (In Russ.)
11. Kosarev VV, Babanov SA. Ethics of Biomedical Research: Problems and Solutions. Med Alm. 2009;(4): 41-5. (In Russ.)
12. Sokol'chik VN. Ethical Aspects of Clinical Research. Nauch Tr Resp In-ta Vyssh Shk. 2015;(14): 278-84. (In Russ.)

13. Mishatkina TV, Yaskevich YaS, Godoval'nikov GV, Denisov DS, red. National and Local Bioethics Committees: Experiences from Central and Eastern Europe: materialy mezhduнарод nauch konf po bioetik. Minsk, RB; 2006. 180 p. (In Russ.)
14. Sushko NA. Ethics Committee: goals and objectives [Elektronnyi resurs]. V: Ros gos med un-t, Kaf biomed etiki. Bioetika: real'nost' zhizni. Chelovek i ego obraz v sovremennoi meditsine i filosofskoi antropologii: ucheb-metod posobie. Moscow, RF; 2001. Rezhim dostupa: <http://rsmu.ru/4773.html>. Data dostupa: 19.08.2019. (In Russ.)
15. Ermolaev DO, Krasovskiy VS, Khazova GS, Petrashova OL. Clinical studies in humans: issues of protecting the rights and freedoms of man and citizen. Sovremen. problemy nauki i obrazovaniia [Elektronnyi resurs]. 2016;(3). Rezhim dostupa: <http://www.science-education.ru/ru/article/view?id=24728>. Data dostupa: 19.08.2019. (In Russ.)
16. Peel M. Human rights and medical ethics. J R Soc Med. 2005 Apr; 98(4): 71-73. doi: 10.1258/jrsm.98.4.171
17. Sayapina SM. Informed voluntary consent to medical intervention: problems of content and process of registration. Med Pravo Teoriia Praktika. 2018;4(1):43-7. (In Russ.)
18. Methodical recommendations of the Ministry of Health of the Republic of Belarus dated 21.04.2000 No. 57-0004 «Procedure for the organization and work of the ethics committee» [Elektronnyi resurs]. Rezhim dostupa: <http://pravo.levonevsky.org/bazaby/org337/basic/text0461.htm>. Data dostupa: 19.08.2019. (In Russ.)
19. Mazur SYu. Procedural codes of ethics committees of psychoanalytic societies: structure, functions, genesis [Elektronnyi resurs]. Zhurn Prakt Psikhologii Psichoanaliza. 2014;(4). Rezhim dostupa: <http://psyjournal.ru/articles/processualnye-kodeksy-eticheskikh-komitetov-psihoanaliticheskikh-obshchestv-struktura-funkcii>. Data dostupa: 19.08.2019.

Submitted 05.04.2019

Accepted 25.07.2019

Сведения об авторах:

Лоллини В.А. – д.м.н., профессор, профессор кафедры внутренних болезней, Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет;

Величинская О.Г. – к.м.н., доцент, доцент кафедры врача общей практики с курсом поликлинической терапии, Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет;

Дикарева Е.А. – к.м.н., доцент кафедры врача общей практики с курсом поликлинической терапии, Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет.

Information about authors:

Lollini V.A. – Doctor of Medical Sciences, professor of the Chair of Internal Medicine, Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University;

Velichinskaya O.G. – Candidate of Medical Sciences, associate professor of the General Practitioner Chair with the course of Outpatient Therapy, Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University;

Dikareva E.A. – Candidate of Medical Sciences, associate professor of the General Practitioner Chair with the course of Outpatient Therapy, 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 врача общей практики с курсом поликлинической терапии. E-mail: velichinskaja@rambler.ru – Величинская Ольга Геннадьевна.

Correspondence address: Republic of Belarus, 210009, Vitebsk, 27 Frunze ave., Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University, General Practitioner Chair with the course of Outpatient Therapy. E-mail: velichinskaja@rambler.ru – Olga G. Velichinskaya.

КОНГРЕСС ЕВРОПЕЙСКО-АФРИКАНСКОЙ АССОЦИАЦИИ ГЕРАТОПАНКРЕАТОБИЛИАРНЫХ ХИРУРГОВ

Со 2 по 5 июня 2019 года в г. Амстердаме (Нидерланды) проходил Конгресс Европейско-Африканской ассоциации гепатопанкреатобилиарных хирургов. От университета присутствовали и выступили с постерными докладами ректор, профессор Щастный А.Т., доценты кафедры хирургии ФПК и ПК Орловский Ю.Н. и Кугаев М.И. На конференции, кроме этого, рассматривались спорные вопросы и инновации в хирургии печени и поджелудочной железы, представлены новые технологии и оборудование для малоинвазивных вмешательств и визуализации. Для университета полученный обмен опытом позволит внедрить и совершенствовать диагностику и лечение патологии печени и поджелудочной железы, а также внедрение новых технологий в учебный процесс кафедры хирургии ФПК и ПК.



РЕСПУБЛИКАНСКАЯ ТЕЛЕКОНФЕРЕНЦИЯ ПО ИННОВАЦИОННЫМ МЕТОДАМ ПРЕПОДАВАНИЯ ДЕРМАТОВЕНЕРОЛОГИИ



В конференц-зале морфологического корпуса Витебского государственного медицинского университета 20 июня 2019 года состоялась II Республиканская телеконференция «Инновационные технологии в преподавании дерматовенерологии», в которой приняли участие четыре медицинских университета нашей страны из Витебска, Гомеля, Гродно и Минска. Презентацию открыл доклад заведующего кафедрой дерматовенерологии ВГМУ, профессора В.П. Адашкевича «Современные методы практико-ориентированного преподавания дерматологии для студентов высших медицинских учреждений».

Затем доцент А.Л. Навроцкий (Минск) представил сообщение «Опыт подготовки студентов-волонтеров по вопросам профилактики ИППП/ВИЧ-инфекции на кафедре кожных и венерических болезней БГМУ», которое затрагивает одну из наиболее актуальных тем по работе со студенческой молодежью. Продолжила конференцию доцент И.Г. Барцевич (ГрГМУ) выступлением на тему «Использование дистанционного обучения как вспомогательного инструмента при получении высшего образования первой ступени». Заключительный доклад «Медицинское образование в контексте Болонского процесса» был представлен старшим преподавателем С.А. Сохар (ГГМУ). В прениях выступил заведующий кафедрой дерматовенерологии ГрГМУ, профессор Д.Ф. Хворик, который отметил преемственность в

преподавании дерматовенерологии в нашей стране и указал на некоторые отличительные особенности в работе преподавателей медицинских вузов по сравнению со странами Европейского Союза. Аудитория в конференц-зале была представлена сотрудниками кафедры дерматовенерологии ВГМУ и курсантами факультета повышения квалификации и переподготовки по педагогике и психологии во главе со старшим преподавателем О.И. Гаповой, которые приняли активное участие в обсуждении различных проблемных вопросов преподавания в медицинском университете.

Республиканская телеконференция прошла с успехом и отличалась разнообразной и насыщенной программой, которая вызвала огромный интерес в аудиториях всех медицинских университетов страны.

VI ФОРУМ РЕГИОНОВ БЕЛАРУСИ И РОССИИ

С 16 по 18 июля 2019 года в г. Санкт-Петербурге Советом Федерации Федерального Собрания Российской Федерации и Советом Республики Национального собрания Республики Беларусь был проведён VI Форум регионов России и Беларуси на тему «Межрегиональные связи как основа формирования единого культурного и гуманитарного пространства народов России и Беларуси». Традиционно центральным мероприятием Форума стало пленарное заседание, в котором приняли участие главы государств России и Беларуси. С докладом на форуме выступил ректор нашего университета, профессор А.Т. Щастный.

Отдельным мероприятием на полях форума стал 7 Российско-Белорусский молодёжный форум «Молодёжь – за союзное государство». В нём приняло участие более 100 молодых лидеров, в том числе и делегация от ВГМУ, состоявшая из к.ф.н., начальника центра трансфера медицинских и фармацевтических технологий М.Л. Пивовара и пятерых студентов нашего университета под руководством проректора по воспитательной и идеологической работе О.А. Сыродоевой. Прошли секционные заседания, посвящённые обсуждению вопросов культурно-гуманитарного взаимодействия регионов, развития туристической отрасли, информационного-образовательного пространства, молодёжной политики, экономической безопасности.



НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ СИМПОЗИУМ «СТУДЕНЧЕСКАЯ НАУКА – СОЮЗНОМУ ГОСУДАРСТВУ»

С 3 по 5 июля 2019 г. в г. Ярославле прошёл III всероссийский межвузовский GxP-саммит с международным участием «Выбор лучших. Время вперед». Цель саммита – развитие и поддержка талантливой и одаренной молодежи в сфере фармации, в частности в отрасли производства лекарственных средств, введение студентов и аспирантов в профессию и создание будущей кадровой базы российских и зарубежных фармацевтических компаний. Организаторами саммита выступили Благотворительный



фонд «Путеводная звезда» и федеральное бюджетное учреждение «Государственный институт лекарственных средств и надлежащих практик».

В мероприятии приняло участие 300 студентов и аспирантов из 17 стран – Российской Федерации, стран ближнего и дальнего зарубежья.

В GxP-саммите приняла участие и делегация Витебского государственного медицинского университета. Проведению саммита предшествовал отборочный конкурс научных работ, по результатам которого 2 аспиранта и 1 студент ВГМУ были приглашены к участию. Честь нашего университета в Ярославле отстаивали сту-

дентка 4 курса фармацевтического факультета Раговешка Анастасия Николаевна, а также аспиранты Романюк Анна Андреевна и Шабунин Евгений Сергеевич.

Три дня, проведенные в г. Ярославле, были очень насыщенными и запоминающимися. В первый день GxP-саммита была проведена экскурсия на фармацевтическое предприятие «Teva». Во второй день состоялся конкурс: студенты и аспиранты решали тестовые задания и задачи на знание и использование в практической деятельности надлежащих практик — лабораторной, клинической, производственной, дистрибьюторской. В этот же день прошла бизнес-игра «Зима близко».

5 июля были подведены итоги GxP саммита. Студентка и аспиранты нашего университета были награждены дипломами об участии.

*А.А. Романюк, аспирант кафедры стандартизации лекарственных средств;
Е.С. Шабунин, аспирант кафедры ОЭФ*

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 приставленные 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 25.07.2019 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.
